



TUGAS AKHIR - SB141510

IRADIASI SINAR GAMMA  $^{60}\text{Co}$  SEBAGAI  
INDUKSI MUTAGENESIS TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN LIPID  
MIKROALGA *Botryococcus* sp.

NIKI YULIANSARI  
1512100005

Dosen Pembimbing 1  
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing 2  
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.

JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2016



FINAL PROJECT - SB141510

EFFECT OF GAMMA  $^{60}\text{Co}$  IRRADIATION ON THE  
GROWTH, AND LIPID CONTENT OF  
MICROALGAE *Botryococcus* sp.

NIKI YULIANSARI  
1512100005

Supervisor 1  
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Supervisor 2  
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.

BIOLOGY DEPARTMENT  
FACULTY OF MATHEMATICS AND SCIENCES  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2016

## LEMBAR PENGESAHAN

# IRADIASI SINAR GAMMA $^{60}\text{Co}$ SEBAGAI INDUKSI MUTAGENESIS TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN LIPID MIKROALGA *Botryococcus* sp.

## TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
pada  
Jurusan S-1 Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

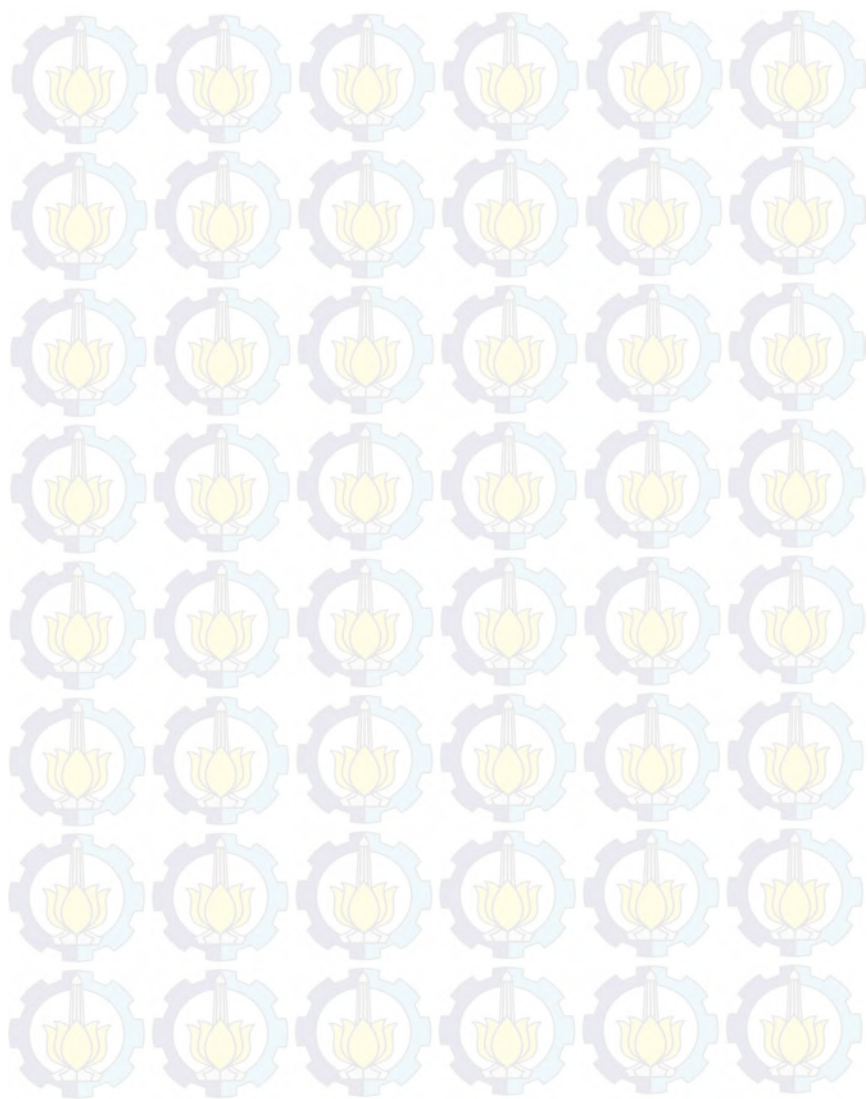
**NIKI YULIANSARI**  
**NRP. 1512 100 005**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir  
Dini Ermavitalini, S.Si., M. Si..... (Pembimbing 1)  
Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T..... (Pembimbing 2)

Surabaya, 23 Juni 2016



Dewi Hidayati, M.Si  
NRP. 1969121 199802 2 001





IRADIASI SINAR GAMMA  $^{60}\text{Co}$  SEBAGAI INDUKSI  
MUTAGENESIS TERHADAP PERTUMBUHAN DAN  
KANDUNGAN LIPID MIKROALGA *Botryococcus* sp.

Nama Mahasiswa : Niki Yuliansari  
NRP : 1512 100 005  
Jurusan : Biologi  
Dosen Pembimbing : Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.  
Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T

ABSTRAK

*Botryococcus* sp. adalah salah satu mikroalga yang berpotensi menjadi sumber lipid sebagai bahan baku produksi biodiesel karena memiliki kandungan lipid yakni sebesar 75% dari berat keringnya. Namun produksi lipid dari mikroalga ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuhnya (pH, cahaya, temperatur, nutrisi, dll). Induksi mutagenesis dengan iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dapat digunakan untuk menginisiasi perubahan genetik pada *Botryococcus* sp. sehingga menghasilkan tipe mikroalga mutan dengan kemampuan memproduksi lipid yang lebih tinggi dibandingkan wild type.

Mikroalga *Botryococcus* sp. diradiasi dengan sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dengan dosis 0, 2, 4, 6 dan 10 Gy, yang bertujuan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan, kandungan lipid mikroalga, dan komposisi asam lemak. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktorial pada taraf kepercayaan 95% untuk analisis kuantitatif yaitu analisis biomassa dan total lipid. Sedangkan analisis komposisi asam lemak dilakukan secara deskriptif kuantitatif dengan uji pada Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp. berpengaruh terhadap biomassa dan kandungan lipidnya. Namun antara perlakuan kontrol (0 Gy) dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 2 Gy, 4 Gy

dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Sedangkan antara kontrol dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy berbeda nyata. Biomassa dan persentase kandungan total lipid tertinggi terdapat pada mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy sebesar 0,333 gram biomassa dan 41% total lipid. Komposisi asam lemak *Botryococcus* sp. kontrol terdiri dari 6 jenis asam lemak sedangkan *Botryococcus* sp. hasil iradiasi 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak, dimana asam lemak rantai panjang meningkat dan asam lemak rantai pendek menurun.

Kata kunci: *Botryococcus* sp., Lipid, Mutagenesis, Pertumbuhan, Sinar Gamma <sup>60</sup>Co.

GAMMA  $^{60}\text{Co}$  IRRADIATION AS MUTAGENESIS INDUCED  
ON THE GROWTH, AND LIPID CONTENT OF  
MICROALGAE *Botryococcus* sp.

**Name Student** : Niki Yuliansari  
**NRP** : 1512 100 005  
**Department** : Biology  
**Supervisor** : Dini Ermavitalini, S.SI., M.Si.  
Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T

**ABSTRACT**

*Botryococcus* sp. is one of microalgae species that produced potential lipid for the biodiesel feedstock, because has a high lipid content as much as 75% of their dry weight. But, lipid production by microalgae is regulated by their environmental condition (pH, light, temperature, nutrition, etc). Mutagenesis induced by Gamma  $^{60}\text{Co}$  irradiation can be utilized to alter the *Botryococcus* sp. genetic to get microalgae mutant strain that can produce a higher lipid content than the wild strain.

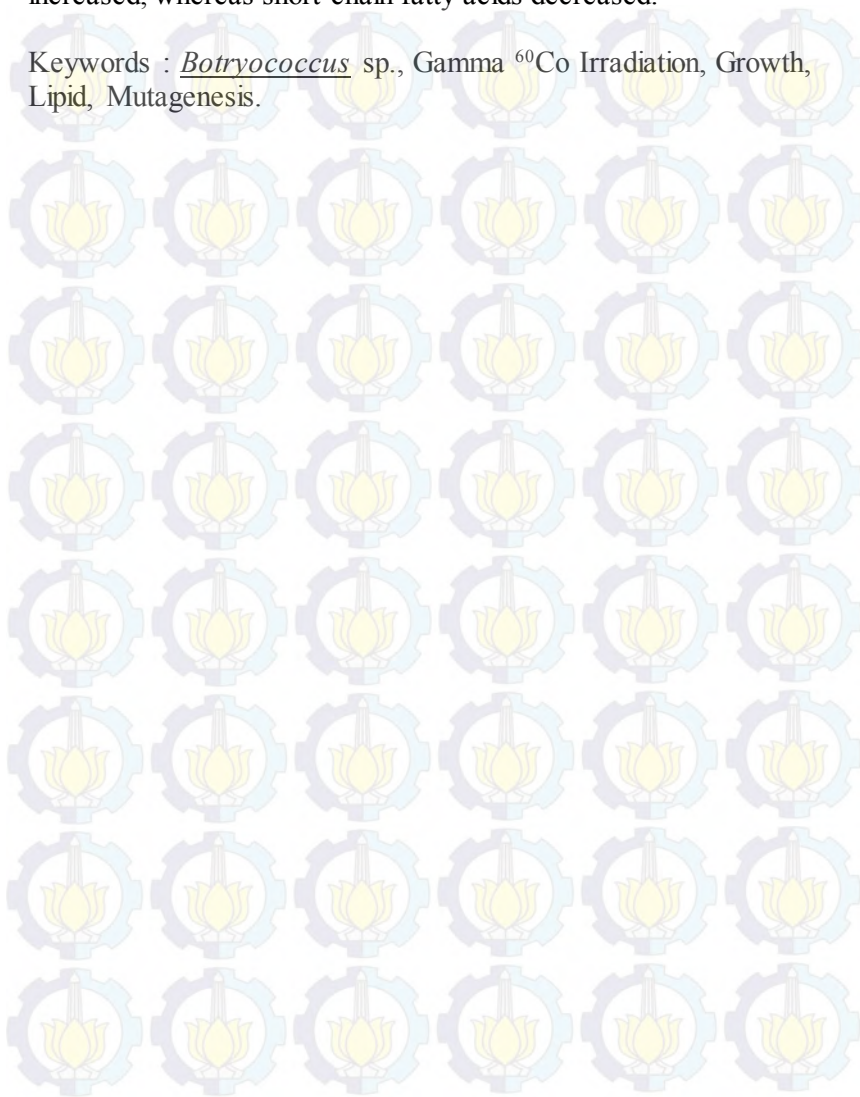
*Botryococcus* sp. irradiated with different doses, including 0, 2, 4, 6, and 10 Gy, to observe the effect for growth, lipid content, and fatty acid composition of microalgae. Research design used are random complete (RAL) with 95 % level of trust for quantitative analysis based on the biomass and lipid content. More over fatty acid composition analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).

Results showed that Gamma  $^{60}\text{Co}$  irradiated gave an effect for growth and lipid content of *Botryococcus* sp.. But between the control treatment (0 Gy) with microalgae irradiated dose of 2 Gy, 4 Gy and 6 Gy were not significantly different. While the control with 10 Gy microalgae irradiated doses was significantly different. The highest biomass and lipid content is found in 10 Gy irradiated dose of microalgae with 0.833 gram biomass and 41% lipid content. Fatty acid profile of *Botryococcus* sp. control has 6 fatty acids while 10 Gy irradiated dose of



microalgae has 12 fatty acids, with the long-chain fatty acids increased, whereas short-chain fatty acids decreased.

Keywords : *Botryococcus* sp., Gamma  $^{60}\text{Co}$  Irradiation, Growth, Lipid, Mutagenesis.





## KATA PENGANTAR

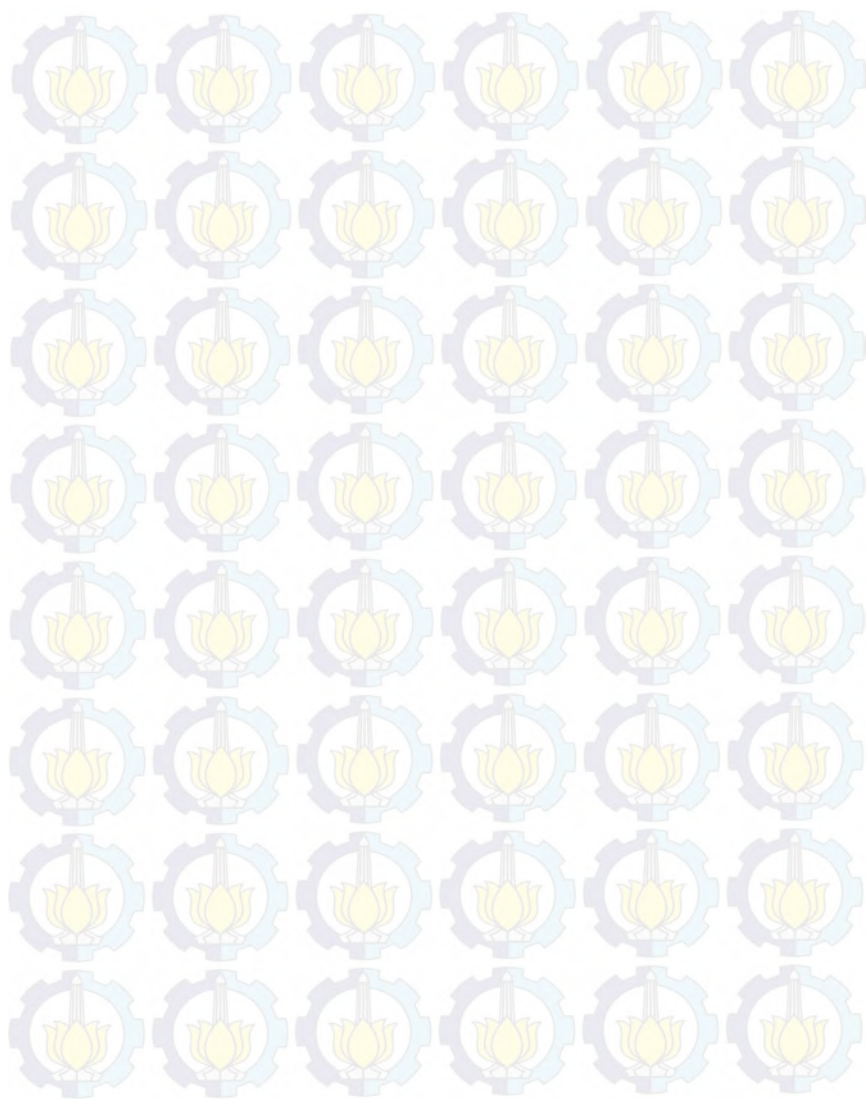
Segala puji syukur dipanjatkan kepada kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tugas Akhir dengan judul **Iradiasi Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  sebagai Induksi Mutagenesis Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Lipid Mikroalga *Botryococcus* sp.** Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2015 hingga Januari 2016. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk menyelesaikan mata kuliah wajib Tugas Akhir, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penyusunan Tugas Akhir ini tidak lepas oleh bimbingan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dini Ermavitalini, S.Si, M.Si, dan Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T selaku dosen pembimbing, Triono Bagus Saputro, S.Si, M.Biotech dan Ir. Sri Nurhatika M.P. selaku penguji. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ibunda Yanty Susanty Tanjung S.E. dan nenek tercinta Hj. Noorsinah, atas segala doa dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan teman-teman seperjuangan angkatan 2012 dan seluruh pihak yang telah banyak membantu.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih memiliki banyak kekurangan. Namun, besar harapan penulis agar Tugas Akhir ini nantinya akan dapat bermanfaat.

Surabaya, 2 Juni 2016

Niki Yuliansari



## DAFTAR ISI

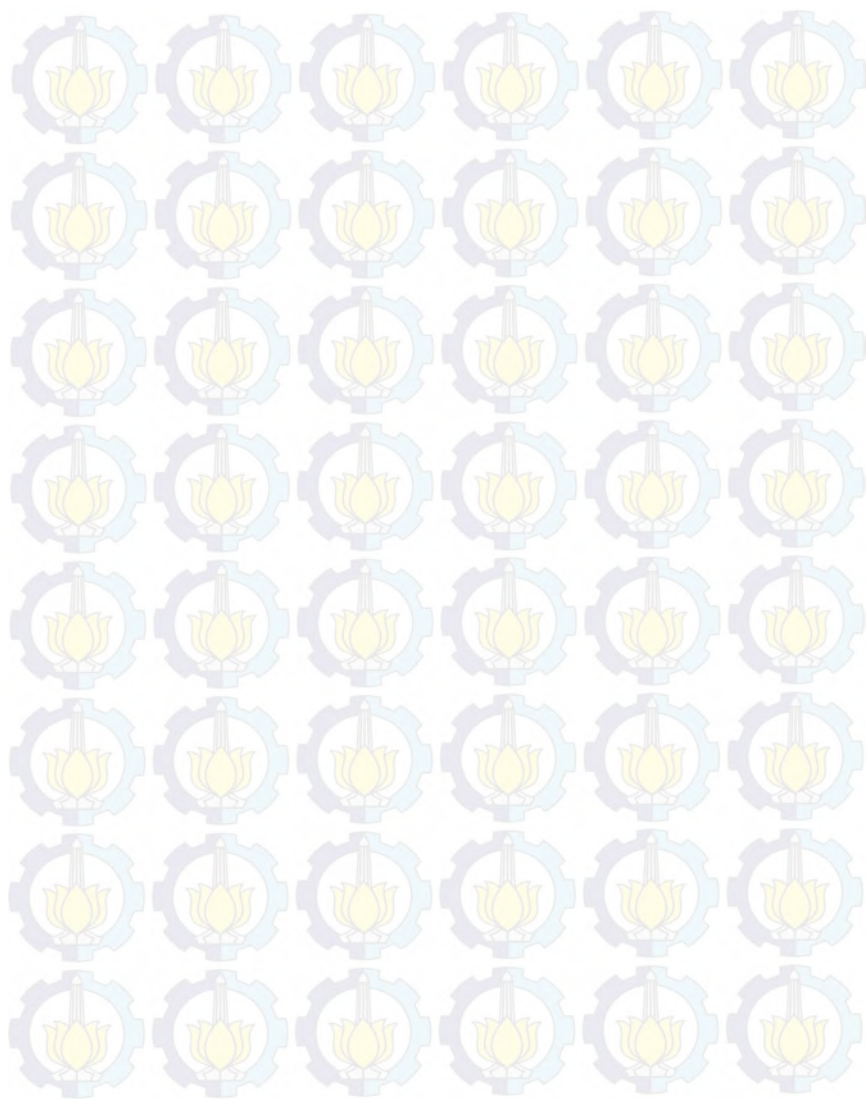
### Halaman

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
ABSTRAK.....	iii
<i>ABSTRACT</i> .....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan.....	3
1.5 Manfaat.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Mikroalga.....	5
2.2 <i>Botryococcus</i> sp.....	6
2.3 Kultur <i>Botryococcus</i> sp.....	8
2.3.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>Botryococcus</i> sp. ....	8
2.3.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga.....	11
2.4 Lipid.....	12
2.5 Biosintesis lipid pada Mikroalga.....	13
2.6 Iradiasi Sinar Gamma <sup>60</sup> Co.....	16
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.2 Metode yang Digunakan.....	19
3.2.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur.....	19
3.2.2 Persiapan Pupuk dalam Kulkur <i>Botryococcus</i> sp. .....	19

3.2.3 Penentuan Umur Starter.....	20
3.2.4 Pembuatan Starter.....	20
3.2.5 Iradiasi Mikroalga.....	21
3.2.6 Penentuan Waktu Pemenenan.....	21
3.2.7 Rancangan Penelitian.....	21
3.2.8 Pemanenan dan Pengukuran Analisis Biomassa <i>Botryococcus</i> sp.....	22
3.2.9 Pengukuran Kandungan Lipid.....	23
3.3 Analisa Data.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Pertumbuhan <i>Botryococcus</i> sp. ....	25
4.2 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Biomassa dan Kandungan Lipid Total <i>Botryococcus</i> sp. ....	26
4.3 Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ Terhadap Komposisi Asam Lemak <i>Botryococcus</i> sp. ....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA .....	35
LAMPIRAN.....	45
BIODATA PENULIS.....	69



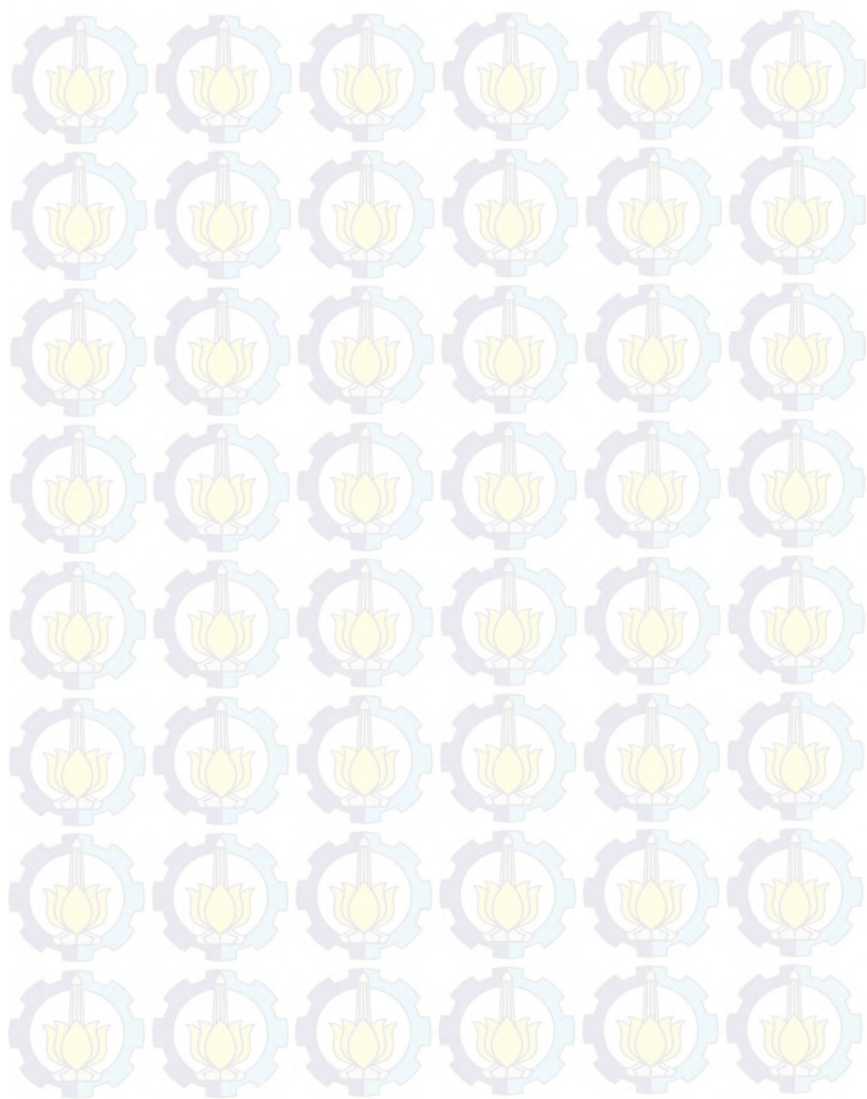
		Halaman
Tabel 2.1	Kandungan Minyak pada Beberapa Spesies Mikroalga.....	9
Tabel 3.1	Komposisi Pupuk Walne.....	26
Tabel 3.2	Rancangan Penelitian.....	22
Tabel 4.1	Pengaruh Iradiasi terhadap Biomassa dan Total lipid <i>Botryococcus</i> sp. ....	27
Tabel 4.2	Profil Asam Lemak <i>Botryococcus</i> sp. 0 Gy (Kontrol) dan Hasil Iradiasi 10 Gy.....	29



## DAFTAR GAMBAR

### Halaman

Gambar 2.1	(A) Hasil mikroskop DIC pada coloni <i>Botryococcus</i> sp. (B) Model dari sel <i>Botryococcus</i> sp. dan ekstra selular matriksnya.....	6
Gambar 2.2	Koloni <i>Botryococcus</i> sp. hasil <i>fluorescing</i> dengan warn merah adalah klorofil dan warna hijau adalah lipidnya.....	7
Gambar 2.3	Kurva pertumbuhan <i>Botryococcus</i> sp. ....	12
Gambar 2.4	Siklus sintesis asam lemak pada mikroalga.....	14
Gambar 4.1	Profil Pertumbuhan Mikroalga <i>Botryococcus</i> sp. ....	25





		Halaman
Lampiran 1.	Diagram Alir Penelitian.....	45
Lampiran 2.	Tabel Hasil Penelitian Biomassa dan Kandungan Lipid.....	46
Lampiran 3.	Perhitungan Kandungan Lipid Total....	48
Lampiran 4.	Hasil Uji Anova dan Uji Lanjut Tukey.	52
Lampiran 5.	Analisis GC-MS.....	54
Lampiran 6.	Dokumentasi Penelitian.....	66

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Mikroalga merupakan organisme uniseluler fotosintetik yang memiliki potensi besar dalam industri bioteknologi terutama sebagai sumber energi terbarukan (Chisti, 2007; Derner et al., 2006). Mikroalga dapat memberikan beberapa jenis sumber energi terbarukan, seperti metana yang dihasilkan oleh proses metabolisme secara anaerobik dari biomassa alga, biodiesel yang berasal dari lipid/minyak mikroalga, dan produksi biohidrogen (Spolaore et al., 2006; Chisti, 2007; Fedorov et al., 2001; Kapdan dan Kargi, 2006).

Mikroalga sebagai sumber biodiesel memiliki potensi untuk benar-benar menggantikan fosil diesel, karena dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak lainnya, mikroalga tumbuh sangat cepat dan mengandung lipid yang tinggi (Spolaore et al., 2006). Mikroalga dapat menggandakan biomasanya dalam waktu 24 jam, duplikasi biomassa mikroalga selama fase eksponensial pertumbuhannya dapat terjadi dalam waktu 3,5 jam, dan kandungan lipid pada mikroalga dapat melebihi 80% berat biomassa keringnya pada kondisi lingkungan tertentu (Metting, 1996; Spolaore et al., 2006).

*Botryococcus* sp. adalah salah satu jenis mikroalga yang termasuk dalam kelas *Chlorophyceae* dengan kandungan total lipid tertinggi dibanding mikroalga jenis lain, yakni sebesar 75% dari berat keringnya (Sawayama et al., 1995; Chisti, 2007). *Botryococcus* memiliki profil asam lemak yang utama yaitu asam oleat (C18:1, 54,9%), asam palmitat (C16:0, 12,2%), asam linolenat (C18:3, 5,5%), asam stearat (C18:0, 3,9%) dan asam linoleat (C18:2, 5,5%), merupakan asam lemak yang dapat digunakan untuk bahan baku biodiesel (Knothe, 2008). Namun produksi biodiesel dari mikroalga masih kurang diaplikasikan

dalam dunia industri karena membutuhkan biaya yang lebih tinggi dibandingkan dengan minyak fosil (Yang *et al.*, 2012).

Penggunaan strain mikroalga dengan kandungan lipid optimum merupakan salah satu solusi untuk meminimalisir biaya produksi mikroalga (Hannon *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2011). Teknologi mutagenesis merupakan metode yang cepat dan efisien untuk mendapatkan strain mikroalga dengan kandungan lipid yang tinggi (Zhang *et al.*, 2013). Mutagenesis dengan radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  memiliki waktu dan intensitas yang terkontrol, serta energi yang lebih besar dari pada radiasi lain seperti Ultraviolet sehingga dapat mempengaruhi atom dan molekul dalam sel untuk menginduksi perubahan materi genetik sel (Kovacs dan Keresztes, 2002; Hwang *et al.*, 2014). Mikroalga hasil mutasi memiliki kapasitas biosintesis lipid yang lebih tinggi sebab beberapa gen yang berkorelasi dengan biosintesis lipid termutasi sehingga menghasilkan ekspresi positif, salah satunya ekspresi gen dari acetyl-CoA carboxylase (ACCase) meningkat lima kali setelah mutagenesis (Cheng *et al.*, 2014). Penelitian serupa menunjukkan mutan *Scenedesmus dimorphus* hasil radiasi sinar Gamma mampu meningkatkan akumulasi lipid sebesar 71,3%, karena beberapa protein yang berkorelasi dengan biosintesis lipid dan metabolisme energinya mengalami *overexpressed* (Jong *et al.*, 2014). Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp. untuk menginduksi perubahan pada jalur metabolismenya sehingga dapat mengakumulasi lipid lebih tinggi sebagai acuan pengembangan produksi biodiesel.

## 1.2 Rumusan Masalah

Radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dapat menghasilkan strain *Botryococcus* sp. dengan metabolisme yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut, dirumuskan masalah mengenai analisis mikroalga *Botryococcus* sp. hasil radiasi sinar Gamma melalui analisis biomassa, total atau kandungan lipid, dan komposisi asam lemak.



### 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini meliputi :

1. Mikroalga yang digunakan adalah *Botryococcus* sp. yang berasal dari biakan koleksi Balai Besar Penelitian Air Payau (BBAP) Situbondo.
2. Radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dilakukan dengan iradiator Gamma Chamber 4000 A dengan dosis 2, 4, 6, dan 10 Gy di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta.
3. Respon iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp. dibatasi dengan parameter sebagai berikut analisis pertumbuhan terkait biomassa mikroalga, kandungan lipid (%), dan komposisi asam lemak.
4. Analisis komposisi asam lemak dilakukan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) di Unit Layanan Pengujian (ULP) Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.

### 1.4 Tujuan

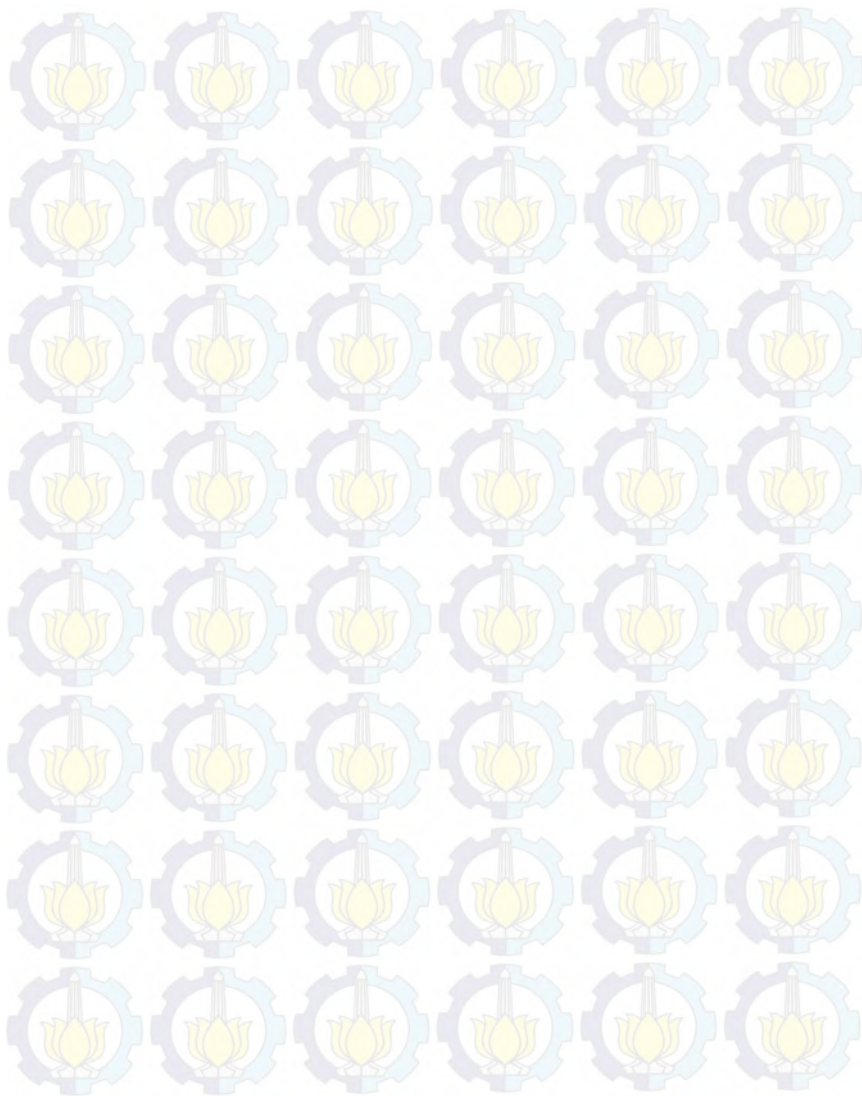
Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada *Botryococcus* sp. terhadap biomassa, kandungan lipid (%), dan komposisi asam lemak.

### 1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai acuan penelitian mengenai pengaruh radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  terhadap pertumbuhan, produksi lipid serta komposisi asam lemak mikroalga *Botryococcus* sp.. Selain itu, penelitian ini dapat menjadi dasar dalam teknik rekayasa mikroalga untuk produksi biodiesel.



**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Mikroalga**

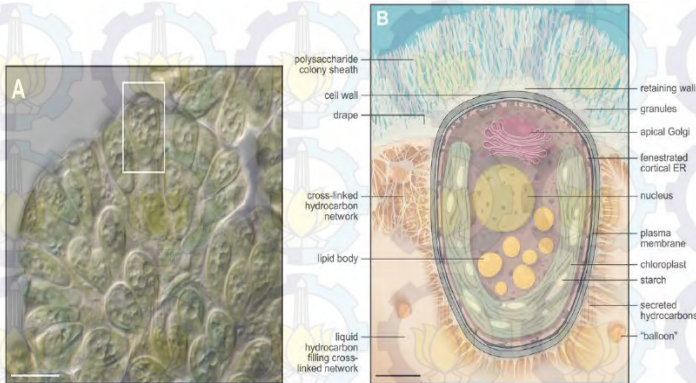
Mikroalga pada umumnya merupakan tumbuhan renik berukuran mikroskopik (diameter antara 3-30  $\mu\text{m}$ ) yang termasuk dalam kelas alga dan hidup sebagai koloni maupun sel tunggal di seluruh perairan tawar maupun laut. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian fungsi organ yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi (Romimohtarto, 2004).

Mikroalga diklasifikasikan menjadi empat kelompok antara lain : diatom (*Bacillariophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), alga emas (*Chrysophyceae*) dan alga biru (*Cyanophyceae*) (Isnansetyo & Kurniastuty, 1995). Eryanto *et al.* (2003) dalam Harsanto (2009) menyatakan bahwa penyebaran habitat mikroalga biasanya di air tawar (*limnoplankton*) dan air laut (*haloplankton*). Berdasarkan distribusi vertikal di perairan, mikroalga dikelompokkan menjadi tiga yaitu hidup di zona *euphotik* (*ephiplankton*), hidup di zona *disphotik* (*mesoplankton*), hidup di zona *aphotik* (*bathylankton*) dan yang hidup di dasar perairan/ bentik (*hypoplankton*).

Mikroalga merupakan kelompok organisme yang sangat beragam dan memiliki berbagai potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, dan bahan kimia lainnya. Kandungan senyawa pada mikroalga bervariasi tergantung dari jenisnya, faktor lingkungan dan nutrisinya. Kandungan lemak rata-rata sel mikroalga bervariasi antara 1–70% tetapi dapat mencapai 90% berat kering dalam kondisi tertentu (Spolaore *et al.*, 2006). Mikroalga juga merupakan satu-satunya sumber biodiesel yang memiliki potensi untuk benar-benar menggantikan fosil diesel. Hal ini karena tidak seperti tanaman penghasil minyak lainnya, mikroalga tumbuh sangat cepat dan mengandung lipid yang tinggi. Mikroalga dapat menggandakan

biomassanya dalam waktu 24 jam. Duplikasi biomassa mikroalga selama fase eksponensial pertumbuhannya dapat terjadi dalam 3,5 jam. Kandungan lipid pada mikroalga ini dapat melebihi 80% berat biomassa keringnya (Metting, 1996;. Spolaore et al, 2006).

## 2.2 *Botryococcus* sp.



Gambar 2.1 (A) Hasil mikroskop DIC pada coloni *Botryococcus* sp. (B) Model dari sel *Botryococcus* sp. dan ekstra selular matriksnya (Taylor *et al.*, 2012)

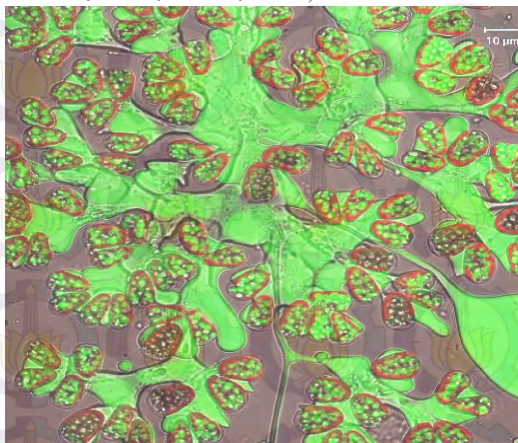
Klasifikasi *Botryococcus* sp. menurut Kuetzing (1849) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Viridiplantae
Class	: Chlorophyta
Order	: Trebouxiophyceae
Family	: Botryococcaceae
Genus	: Botryococcus
Species	: <i>Botryococcus</i> sp.

*Botryococcus* sp. memiliki inti sel dengan ukuran  $\pm 15\text{--}20\text{ }\mu\text{m}$  dan berkoloni, bersifat non motil dan setiap pergerakannya sangat dipengaruhi oleh arus perairan (Kabinawa, 2008). Koloni *Botryococcus* sp. banyak dijumpai di perairan danau, tambak



ataupun perairan payau sampai laut (Metzger & Largeau, 2005). Kandungan klorofil (zat hijau daun) *Botryococcus* sp. mencapai  $\pm 1,5\text{--}2,8\%$ , terdiri dari klorofil a, b, dan c, sehingga di permukaan perairan tampak berwarna hijau-coklat kekuningan (Kabinawa, 2008). Sedangkan lipidnya mencapai 75% dari berat keringnya (Sawayama *et al.*, 1995; Chisti, 2007).



Gambar 2.2 Koloni *Botryococcus* sp. hasil *fluorescing* dengan warna merah adalah klorofil dan warna hijau adalah lipidnya (Gouveia, 2010).

Gambar di atas menunjukkan tingginya kandungan lipid yang dimiliki mikroalga jenis *Botryococcus*. Kandungan lipid yang dimiliki oleh *Botryococcus* sp. lebih tinggi jika dibandingkan dengan mikroalga jenis lain, sehingga sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Perbandingan total lipid yang dimiliki mikroalga *Botryococcus* sp. dengan spesies lain seperti pada tabel di bawah ini.



**Tabel 2.1** Kandungan Minyak pada Beberapa Spesies Mikroalga (Banerjee *et al.*, 2002)

Spesies	Kandungan Minyak (% berat kering)
<i>Botryococcus braunii</i>	75
<i>Scenedesmus obliquus</i>	35–55
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16–40
<i>Chlorella vulgaris</i>	56
<i>Dunaliella bioculata</i>	8
<i>Dunaliella salina</i>	14–20
<i>Nitzschia sp</i>	45–47
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–65
<i>Spirulina maxima</i>	4–9
<i>Dunaliella bioculata</i>	8
<i>Chlorella emersonii</i>	63
<i>Chlorella protothecoides</i>	23–55

*Botryococcus braunii* memiliki kemampuan luar biasa untuk mensintesis dan mengumpulkan berbagai macam lipid dan hidrokarbon. Dinding sel *Botryococcus braunii* relatif lebih tebal dari spesies mikroalga hijau lainnya dikarenakan akumulasi penumpukan dari pembelahan sel sebelumnya. *Botryococcus braunii* mulai mengalami fase log untuk pertumbuhannya pada saat 72 jam waktu kultur di kolam terbuka dan bisa mencapai 2 hari pada kondisi laboratorium. *Botryococcus braunii* tumbuh pada daerah subtropis dan tropis dengan suhu tumbuh antara 23–27 °C (Qin, 2009).

Proses reproduksi *Botryococcus* sp. terdiri dari tahap pertumbuhan dimana sel tumbuh membesar, lalu tahap pemasakan yakni awal saat terjadi peningkatan aktivitas sintesa yang merupakan persiapan awal pembentukan autospora, tahap pemasakan akhir saat autospora terbentuk, dan tahap pelepasan autospora, dinding sel induk akan pecah dan diikuti oleh pelepasan autospora yang akan tumbuh menjadi sel induk muda (Zahara, 2003).

## **2.3 Kultur *Botryococcus* sp.**

### **2.3.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Botryococcus* sp.**

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga, diantaranya faktor abiotik (cahaya matahari, temperatur, nutrisi, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, pH, salinitas) dan faktor biotik (bakteri, jamur, virus, dan kompetisi dengan mikroalga lain) (Harun *et al.*, 2010; Chisti, 2007). Produksi lipid mikroalga sendiri dipengaruhi secara kualitatif dan kuantitatif oleh beberapa kondisi lingkungan. Menurut Bajpai (1993), parameter seperti unsur hara, intensitas cahaya, suhu, salinitas dan pH, dan O<sub>2</sub> berperan penting dalam biosintesis dan akumulasi lipid.

#### **1. Unsur Hara**

Nutrien (unsur hara) merupakan parameter penting yang mendukung pertumbuhan mikroalga. Mikroalga mendapatkan nutrisi dari air laut yang sudah mengandung nutrisi yang cukup lengkap. Namun pertumbuhan mikroalga dengan kultur dapat mencapai optimum dengan mencampurkan air laut dengan nutrient yang tidak terkandung dalam air laut tersebut. Nutrien tersebut dibagi menjadi makronutrien dan mikronutrien. Makro-nutrien terdiri dari C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca. Mikronutrien terdiri dari Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, B, Vn dan Si. Faktor pembatas untuk pertumbuhan mikroalga adalah N dan P (Cahyaningsih, 2009).

#### **2. Cahaya**

Cahaya adalah sumber energi dalam proses fotosintesis. Alga adalah organisme photoautotropik atau phototropik. Cahaya menjadi faktor pembatas fotosintesis pada intensitas yang rendah. Pada keadaan ini laju dari keseluruhan fotosintesis ditentukan oleh laju suplai energi cahaya (John & James, 2008).

#### **3. Suhu**

Suhu merupakan parameter penting dalam lingkungan perairan dan berpengaruh secara langsung maupun tidak langsung terhadap kehidupan di laut. Suhu mempengaruhi kehidupan di

perairan secara fisik, kimia maupun biologis. Pengaruh suhu secara langsung mempengaruhi pemijahan, penetasan, aktivitas, dan pertumbuhan organisme. Suhu optimum untuk pertumbuhan mikroalga adalah 20-30°C (Cahyaningsih, 2009). Penelitian pengaruh suhu pertumbuhan terhadap kandungan lipid pada mikroalga telah banyak dilakukan dan dilaporkan. Umumnya, peningkatan suhu pertumbuhan dari kisaran optimumnya akan seiring dengan peningkatan produksi lipid pada mikroalga (Shaw, 1996).

#### 4. pH

Nilai pH menyatakan nilai konsentrasi ion hidrogen dalam suatu larutan. Kemampuan air untuk mengikat atau melepaskan sejumlah ion hidrogen akan menunjukkan apakah larutan tersebut bersifat asam atau basa. Organisme air dapat hidup dalam suatu perairan yang mempunyai nilai pH netral dengan kisaran toleransi antara asam lemah sampai basa lemah (Anita *et al.*, 2010). Nilai pH medium kultur merupakan faktor pengontrol yang menentukan kemampuan biologis mikroalga dalam memanfaatkan unsur hara. Nilai pH yang terlalu tinggi misalnya, akan mengurangi aktifitas fotosintesis mikroalga (Barus, 2004).

#### 5. Salinitas

Salinitas adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap organisme air (khususnya mikroalga) dalam mempertahankan tekanan osmotik dalam protoplasma dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Salinitas merupakan nilai yang menunjukkan jumlah garam-garam terlarut dalam suatu volume air yang biasanya dinyatakan dengan satuan promil (‰). Kandungan utama dari air laut dibentuk oleh ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ , ditambah berbagai jenis unsur lain yang jumlahnya relatif sedikit (Anita *et al.*, 2010).

#### 6. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan suatu faktor yang sangat penting di dalam ekosistem air, terutama sekali dibutuhkan untuk proses respirasi bagi sebagian besar organisme air. Umumnya,



kelarutan oksigen dalam air sangat terbatas. Dibandingkan dengan kadar oksigen di udara yang mempunyai konsentrasi sebanyak 21%. Air hanya mampu menyerap oksigen sebanyak 1% (Barus, 2004). Mikroorganisme memelurkan oksigen molekuler untuk mekanisme desaturasi dan jalur-jalur biosintetik PUFA. Jadi ketersediaan oksigen menentukan derajat asam-asam lemak tidak jenuh yang diproduksi (Bajpai, 1993).

### **2.3.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga**

Fase pertumbuhan mikroalga dibagi atas 5 fase menurut Isnansetyo & Kurniastuty (1995), sebagai berikut :

#### **1. Fase Lag (adaptasi)**

Fase lag merupakan fase saat inokulum ditambahkan ke dalam media kultur hingga beberapa saat sesudahnya. Pada fase ini peningkatan paling signifikan terlihat pada ukuran sel karena secara fisiologis mikroalga menjadi sangat aktif. Proses sintesis protein baru juga terjadi dalam fase ini. Metabolisme berjalan tetapi pembelahan sel belum terjadi sehingga kepadatan sel belum meningkat karena mikroalga masih beradaptasi dengan lingkungan barunya.

#### **2. Fase Logaritmik (log) atau Eksponensial**

Fase ini dimulai dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang meningkat secara intensif. Bila kondisi kultur optimum maka laju pertumbuhan pada fase ini dapat mencapai nilai maksimal dan pola laju pertumbuhan dapat digambarkan dengan kurva logaritmik. Pada fase ini merupakan fase terbaik untuk memanen mikroalga untuk keperluan pakan ikan atau industri.

#### **3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan**

Pembelahan sel tetap terjadi pada fase ini, namun tidak seintensif fase sebelumnya, sehingga laju pertumbuhan juga mengalami penurunan dibandingkan fase sebelumnya.

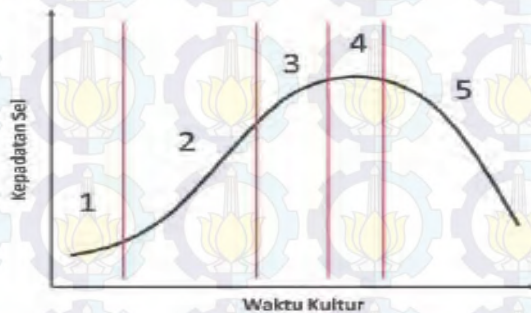


#### 4. Fase Stasioner

Pada fase ini laju reproduksi dan laju kematian relatif sama. Penambahan dan pengurangan jumlah mikroalga seimbang sehingga kepadatannya relatif tetap (stasioner).

#### 5. Fase Kematian

Fase ini ditandai dengan laju kematian yang lebih besar daripada laju reproduksi sehingga jumlah sel mengalami penurunan secara geometrik. Penurunan kepadatan sel fitoplankton ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh temperatur, cahaya, pH medium, ketersediaan hara, dan beberapa faktor lain yang saling terkait satu sama lain. Secara skematis pola pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan Mikroalga (Isnansetyo & Kurniastuty 1995).

Keterangan :

1 Fase Lag; 2 Fase Log; 3 Fase Penurunan Laju Pertumbuhan; 4. Fase Stasioner; 5 Fase Kematian

### 2.4 Lipid

Lipid adalah senyawa organik yang terdapat di dalam makhluk hidup yang tidak larut di dalam air tetapi larut di dalam pelarut nonpolar seperti heksan, dietileter. Komponen utama lipid adalah lemak, lebih 95% lipid adalah lemak (McKee & McKee, 2003). Lipid juga dapat dikelompokkan berdasarkan gugus polar dan non polar. Lipid yang hanya mengandung gugus non polar

disebut lipid non polar atau lipid netral, sebagai contoh kelompok lemak (*fat*). Lipid non polar berperan dalam metabolisme, khususnya sebagai cadangan energi. Lipid yang mengandung gugus polar dan gugus non polar disebut lipid polar, sebagai contoh fosfolipid. Lipid polar berperan di dalam membran sel dan membran organel untuk melindungi isi sel dan organel dari lingkungan luar sel (Boyer, 2002).

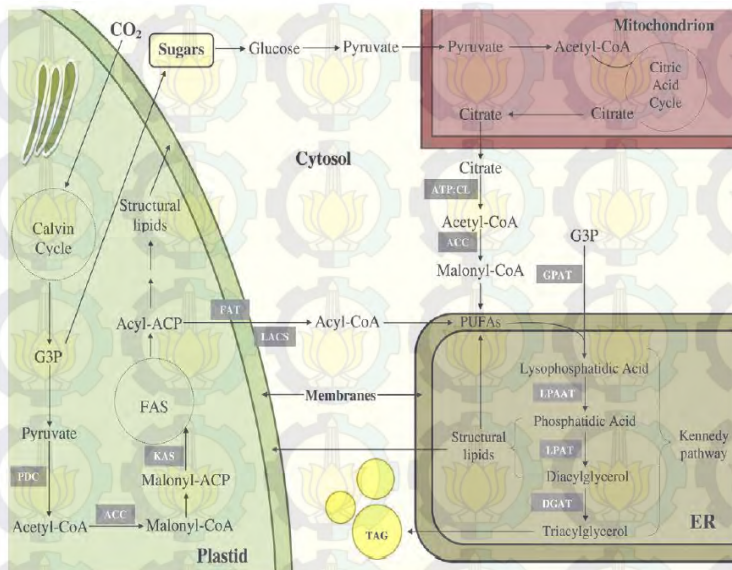
Lipid yang umumnya diakumulasi oleh mikroorganisme adalah TAG, karena TAG merupakan komponen utama cadangan energi dalam sel. Akumulasi molekul triacylglycerol terjadi dalam struktur subsel spesifik, *oil body* (Dahlqvist *et al.*, 2000). Triacylglycerol merupakan molekul hasil kondensasi dari satu molekul gliserol dan tiga asam lemak dengan melepaskan air. Asam-asam lemak yang terikat membentuk TAG merupakan asam organik berantai lurus yang biasanya mempunyai atom karbon antara 16 sampai 24 atom per molekul (Canakci, 2003). Komposisi asam lemak pada mikroalga yang sangat bervariasi menyebabkan karakteristik biodiesel yang dihasilkan juga beragam. Komposisi lipid *Botryococcus* memiliki profil asam lemak yang utama yaitu asam oleat (C18:1, 54,9%), asam palmitat (C16:0, 12,2%), asam linolenat (C18:3, 5,5%), asam stearat (C18:0, 3,9%) dan asam linoleat (C18:2, 5,5%), merupakan asam lemak yang dapat digunakan untuk bahan baku biodiesel (Knothe, 2008). Asam stearat dan asam palmitat termasuk jenis asam lemak jenuh, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat termasuk asam lemak tak jenuh, jika asam lemak terlepas dari triglisericidanya maka akan menjadi lemak asam bebas (*free fatty acids* = FFA) (Canakci 2003).

## 2.5 Biosintesis Lipid pada Mikroalga

Reaksi fotosintesis mengkonversi CO<sub>2</sub> menjadi gliseraldehid 3 fosfat (G3P). Molekul ini menjadi prekursor untuk pembentukan material seperti polisakarida dan lipid. G3P dikonversi menjadi piruvat kemudian diubah menjadi asetil Co-A melalui katalisis oleh *pyruvate dehydrogenase complex* (PDC).

Proses ini mengaktifkan jalur biosintesis lipid yang berada pada plastida. Asetil-CoA juga dapat dihasilkan melalui jalur biokimia yang memungkinkan konversi polisakarida menjadi lipid (Bellou dan Aggelis, 2012; Makri et al., 2010; Papanikolaou and Aggelis, 2011).

Hidrolisis polisakarida simpanan menghasilkan energi melalui glikolisis terjadi di sitosol diikuti dengan siklus asam sitrat yang terjadi di dalam mitokondria. Akumulasi sitrat dalam mitokondria selanjutnya diekskresikan ke sitosol. *ATP-dependent citrate lyase* (ATP-CL) pada sitosol mengubah sitrat menjadi oksaloasetat dan asetil-CoA; selanjutnya diubah menjadi malonil-CoA oleh sitosol asetil-CoA karboksilase (ACC), kemudian akan digunakan untuk pembentukan asam lemak rantai panjang di membran retikulum endoplasma (ER) (Mühlroth *et al.*, 2013).



Gambar 2.4. Siklus sintesis asam lemak pada mikroalga (Bellou *et al.*, 2014)

Keterangan : ACC, *acetyl-CoA carboxylase*; ACP, *acyl-carrier protein*; LACS, *long-chain acyl-CoA synthetase*; ATP:CL, *ATP-*



*dependent citrate lyase*; CoA, coenzyme A; DGAT, *diacylglycerol acyltransferase*; ER, *endoplasmic reticulum*; FAS, *fatty acid synthase*; FAT, *fatty acyl-ACP thioesterase*; G3P, *glycerate-3-phosphate*; GPAT, *glycerol-3-phosphate acyltransferase*; KAS, *3-ketoacyl-ACP synthase*; LPAAT, *lysophosphatidic acid acyltransferase*; LPAT, *lysophosphatidylcholine acyltransferase*; PDC, *pyruvate dehydrogenase complex*; TAG, *triacylglycerol*.

Biosintesis asam lemak dimulai dengan karboksilasi asetil-CoA membentuk malonil-CoA. Reaksi ini dikatalisis oleh ACCS baik di plastid atau di sitosol (Baba dan Shiraiwa, 2013; Davis et al, 2000; Khozin-Goldberg dan Cohen, 2011; Kim, 1997; Lei et al, 2012). Dalam plastid itu, malonil-CoA ditransfer ke asil-carrier protein (ACP), yang merupakan salah satu subunit dari sintase asam lemak (FAS) yang kompleks, oleh malonil-CoA-transasetilase ACP (Blatti et al, 2012; Greenwell et al, 2010; Hu et al, 2008; Subrahmanyam dan Cronan, 1998). Malonyl-ACP menginduksi siklus sintesis asam lemak dengan sintase 3-ketoacyl-ACP (KAS). KAS mengkatalisis kondensasi gugus asetil dengan malonil-ACP untuk membentuk ketobutyryl-ACP. Senyawa ini dikonversi melalui reaksi *reduction-dehydration-reduction* untuk membentuk butiril-ACP dan siklus diulang sampai terjadi pembentukan palmitoil-ACP. Kemudian diubah menjadi stearoil-ACP setelah penambahan dua molekul karbon berasal dari asetil-CoA. Oleoil-ACP juga disintesis setelah desaturasi dari stearoil-ACP (Mühlroth et al, 2013; WL Yu et al, 2011.).

Pada prinsipnya, asam lemak dilepaskan dari ACP oleh *fatty acyl-ACP thioesterase* (FAT), yang terletak di kloroplas. Proses ini diaktifkan setelah asil-CoA oleh *long-chain acyl-CoA synthetase* (LACS) ditransfer ke sitosol, yang digunakan untuk sintesis lipid. Pada mikroalga, rantai asil dapat digunakan untuk pembentukan lipid struktural (umumnya glikolipid) dalam plastida (Ohlrogge dan Browse, 1995). Asil-CoA juga dikeluarkan ke sitosol lalu terjadi esterifikasi dengan fosfolipid



struktural ER yang akan dikonversi menjadi derivatif yang lebih tinggi (seperti PUFA). Pembentukan Triasilgliserol terjadi melalui jalur Kennedy di retikulum endoplasma (ER). G3P dan asil Co-A digunakan untuk membentuk asam lyso-phosphatidic. Kemudian diubah dengan enzim LPAAT menjadi asam phosphatidic. Asam phosphatidic akan diubah lagi menjadi diasilgliserol oleh LPAT. Kemudian akan dikonversi menjadi triasilgliserol dengan enzim *diacylglycerol acyltransferase* (Chen dan Smith, 2012 ; Liu dan Benning, 2013; Merchant et al, 2012;.. Radakovits et al, 2010). Akumulasi molekul triacylglycerol terjadi dalam struktur subsel spesifik yang disebut *oil body* atau oleosome (Dahlqvist *et al.*, 2000).

## 2.6 Mutasi dengan Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$

Mutasi adalah perubahan yang terjadi secara tiba-tiba dan acak pada materi genetik (genom, kromosom, gen). Induksi mutasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan keragaman tanaman. Mutagen atau alat mutasi artifisial dibedakan atas dua kelompok, yaitu mutagen fisik dan mutagen kimia. Mutagen fisik adalah radiasi ion yang meliputi sinar X, sinar Gamma, neutron, partikel beta, partikel alfa, dan proton. Sinar Gamma sangat luas digunakan dalam pemuliaan tanaman (Lestari, 2012). Radiasi ion mengakibatkan mutasi, yakni merombak/memecah rantai kimia pada molekul DNA, delesi ikatan nukleotida, atau terjadinya substitusi ikatan nukleotida. Sinar Gamma merupakan radiasi elektromagnetik yang diproduksi oleh radio isotop dan reaktor nuklir, contohnya  $\text{Co}60$  dan  $\text{Ce}137$  (Acquaah, 2007; Soeranto, 2003).

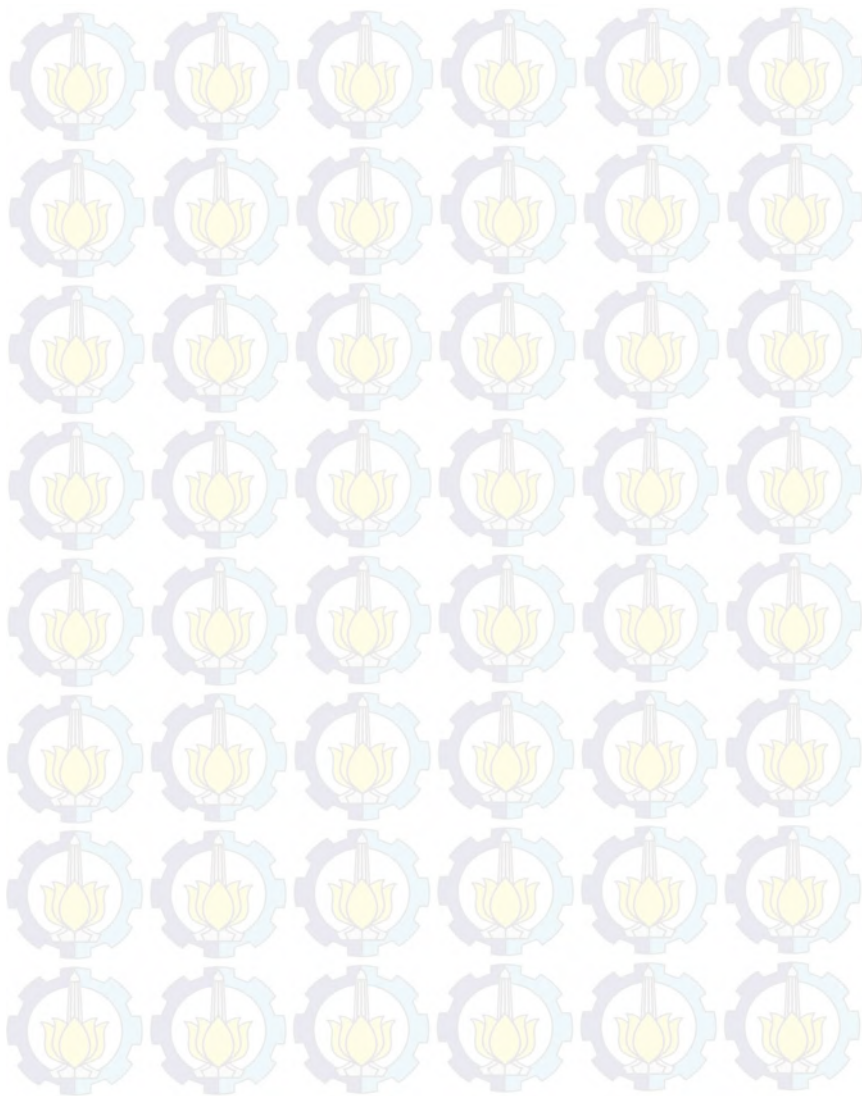
Berdasarkan tipe struktur perubahannya, mutasi diklasifikasikan atas: (1) mutasi genomik yang menyebabkan perubahan jumlah kromosom (poliploid, haploid, aneuploid), (2) mutasi kromosom, yaitu terjadinya perubahan struktur kromosom (defisiensi, inversi, duplikasi, dan translokasi kromosom), (3) mutasi gen, yaitu perubahan pada urutan basa nukleotida karena terjadi delesi atau substitusi, dan (4) mutasi diluar inti sel, yaitu

yang terjadi pada cytoplasmic genome.(Acquaah, 2007; Gosal, 2006).

Sinar Gamma memproduksi energi, hal ini dapat menyebabkan kerusakan molekul melalui reaksi spontan di mana energi radiasi diserap oleh molekul DNA. Pada reaksi ini, energi tidak langsung diserap (diabsorpsi) oleh DNA, tapi oleh molekul lain dalam sel yang memproduksi radikal bebas sehingga mengakibatkan perubahan molekul DNA (Acquaah, 2007). Sinar Gamma dapat digunakan untuk merubah karakter fisiologi (Kiong et al., 2008) Hasil pengaruh sinar ini berdasarkan pada interaksi atom atau molekul di dalam sel, khususnya air, yang menghasilkan radikal bebas (Kovacs, 2002). Radikal bebas dapat merusak atau memodifikasi komponen penting sel dan telah menghasilkan pengaruh yang berbeda pada morfologi, anatomi, biokimia, dan fisiologi sel terutama tanaman tergantung dari dosis radiasi yang diberikan (Ashraf et al., 2003). Pengaruh lain yang dihasilkan adalah terjadi perubahan struktur sel dan metabolisme seperti perubahan pada fotosintesis (Kovacs, 2002).

Kelemahan dari pemuliaan mutasi adalah mutasi bersifat random. Beberapa hal yang menentukan keberhasilan mutasi, yaitu karakter atau sifat yang ingin diperbaiki harus sudah ditetapkan terlebih dahulu, metode screening /seleksi harus tepat pada materi yang akan dimutasikan, harus diketahui sebelum menginduksi mutasi, dan (d) dosis dan waktu aplikasi mutagen yang tepat (Acquaah, 2007).

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**





## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Pelaksanaan penelitian Tugas Akhir ini dilakukan pada bulan September 2015 hingga Januari 2016 di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

### **3.2 Metode yang Digunakan**

Penelitian dilakukan sesuai diagram alir pada Lampiran 1, dengan metode sebagai berikut :

#### **3.2.1 Sterilisasi Alat dan Media Kultur**

Tahapan sterilisasi yang dilakukan merujuk pada Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), sebagai berikut:

- a) Semua peralatan gelas dicuci dengan menggunakan deterjen, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan. Selanjutnya alat gelas di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.
- b) Selang plastik aerator disterilkan dengan merendamnya dalam larutan natrium hipoklorit selama 10-15 menit. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dan dikering anginkan. Selanjutnya selang plastik aerator dibungkus dengan plastik tahan panas dan di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.
- c) Air laut yang digunakan untuk pertumbuhan *Bortyococcus* sp. dalam penelitian berasal dari penyedia komersial dengan salinitas sebesar 25 ppt dan pada pH optimum yaitu 7,2 (Susilowati dan Amini, 2010). Selanjutnya air laut tersebut di autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.



### 3.2.2 Persiapan Pupuk untuk Media Kultur *Botryococcus* sp.

Pupuk berfungsi sebagai sumber nutrisi pertumbuhan sel *Botryococcus* sp. dalam medium kultur. Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pupuk Walne yang diperoleh dari Laboratorium Pakan Alami, Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo dengan komposisi sesuai yang ditampilkan pada tabel 3.1 Bahan-bahan pupuk Walne tersebut dilarutkan dalam 1 L aquades.

Tabel 3.1 Komposisi Pupuk Walne (Andersen, 2005)

Bahan	Ukuran
1. Komponen Nutrien	
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	20 gr
Na <sub>2</sub> EDTA	45 gr
FeCl <sub>3</sub>	1,30 gr
NaNO <sub>3</sub>	100 gr
MnCl <sub>2</sub>	0,36 gr
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33,60 gr
Bahan	
2. Stok Larutan Vitamin	
Vitamin B12 (Cyanocobalamin)	5,00 gr
Vitamin B1 (Thiamine.HCl)	100,00 gr

### 3.2.3 Penentuan Umur Starter

Penentuan umur starter *Botryococcus* sp. yang akan digunakan untuk radiasi didapatkan dari kurva pertumbuhan mikroalga tersebut. Kultivasi mikroalga untuk pengamatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan bibit mikroalga *Botryococcus* sp. yang diperoleh dari BBAP Situbondo dengan kepadatan sel 17.000.000 sel/ml diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut dan 0,3 ml pupuk Walne. Kepadatan sel *Botryococcus* sp. diukur setiap 24 jam hingga mencapai fase kematian menggunakan spektrofotometer

Genesys 10S UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm (Kusmiyati, 2007).

#### **3.2.4 Pembuatan Starter**

Kurva pertumbuhan menunjukkan fase-fase kehidupan dari mikroalga. Setelah waktu pada fase-fase tersebut diketahui maka dibuat starter mikroalga *Botryococcus* sp. dengan kultivasi seperti pada metode sebelumnya, yaitu *Botryococcus* sp. diambil sebanyak 60 ml dan dimasukkan ke dalam botol kultur yang berisi 240 ml air laut dan 0,3 ml pupuk Walne. Setelah sampai pada fase setengah eksponensial dengan nilai *Optical Density*  $\pm 0,45$ , maka mikroalga di ambil dan disiapkan untuk diradiasi (Cheng *et al.*, 2014).

#### **3.2.5 Iradiasi Mikroalga**

Mikroalga *Botryococcus* sp. diambil sebanyak 60 ml (OD :  $\pm 0,45$  pada panjang gelombang 680 nm) atau fase setengah eksponensial, lalu dimasukkan ke dalam botol kultur (Cheng *et al.*, 2014). Mikroalga diradiasi dengan sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada dosis 2, 4, 6, dan 10 Gy menggunakan iradiator Gamma Chamber 4000 A di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta.

#### **3.2.6 Penentuan Waktu Pemanenan**

Penentuan waktu pemanenan dalam hal ini adalah pembuatan kurva pertumbuhan *Botryococcus* sp. pada masing-masing mikroalga hasil radiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  untuk mengetahui fase pertumbuhan eksponensial akhir sebagai dasar dalam menentukan waktu pemanenan *Botryococcus* sp. (BBAP, 2013). Metode yang dilakukan sama dengan metode penentuan umur starter pada sub bab 3.2.4.

#### **3.2.7 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Penelitian secara deskriptif berdasarkan hasil analisis dengan *Gas Chromatography* (GC), dan secara kuantitatif berdasarkan analisis dengan uji Anova (*Analysis of Variance*). Rancangan

penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Kusriningrum, 2008). Penelitian terdiri dari 5 perlakuan, dengan 3 kali pengulangan. Mikroalga *Botryococcus* sp. diradiasi dengan dosis 0, 2, 4, 6, dan 10 Gy, kemudian dianalisis biomassa, dan kandungan lipidnya. Berikut adalah tabel rancangan penelitian ini :

**Tabel 3.1** Rancangan Penelitian

Perlakuan		Ulangan	<i>Botryococcus</i> sp. (B)
Dosis Radiasi (D)	0 Gy	1	BD0 <sub>1</sub>
		2	BD0 <sub>2</sub>
		3	BD0 <sub>3</sub>
	2 Gy	1	BD2 <sub>1</sub>
		2	BD2 <sub>2</sub>
		3	BD2 <sub>3</sub>
	4 Gy	1	BD4 <sub>1</sub>
		2	BD4 <sub>2</sub>
		3	BD4 <sub>3</sub>
	6 Gy	1	BD6 <sub>1</sub>
		2	BD6 <sub>2</sub>
		3	BD6 <sub>3</sub>
	10 Gy	1	BD10 <sub>1</sub>
		2	BD10 <sub>2</sub>
		3	BD10 <sub>3</sub>

### 3.2.8 Pemanenan dan Analisis Biomassa *Botryococcus* sp.

Pemanenan *Botryococcus* sp. pada setiap perlakuan dilakukan pada fase eksponensial akhir seperti yang digunakan pada subbab 3.2.7. Menurut Duong *et al.* (2012) bahwa pada fase eksponensial akhir, kultur mikroalga memiliki kemampuan akumulasi lipid yang tinggi. Pengukuran produksi biomassa dilakukan dengan memanen 100 ml mikroalga dengan cara disaring dengan kertas saring Whattman No. 40 yang telah diketahui beratnya dan dibilas dengan aquades. Kertas saring dan hasil panen kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam



pada suhu 60°C, kemudian ditimbang. Bobot kering dari mikroalga yang dipanen tersebut didapat dari selisih bobot kering kertas saring dan mikroalga dengan bobot kering kertas saring.

### 3.2.9 Pengukuran Kandungan Lipid

Pengukuran kadar lipid total pada penelitian ini menggunakan metode Bligh & Dyer (1959) yang telah dimodifikasi. Diambil sebanyak 10 mL sel kultur dan disentrifugasi 6000 rpm selama 15 menit. Untuk ekstraksi minyak ditambahkan metanol sebanyak 3 mL, selanjutnya disonikasi 4 x 1 menit di Laboratorium Kimia Material dan Energi (KME), Jurusan Kimia ITS. Setelah itu ditambahkan 6 mL kloroform dan dilakukan *Shaker* selama 1 jam. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan di *shaker* kembali selama 15 menit. Hasil *shaker* tersebut didiamkan sebentar agar terpisah fase air dan minyaknya. Minyak berada di bagian bawah. Minyak mikroalga yang masih bercampur dengan kloroform diambil menggunakan pipet pasteur ke dalam tabung reaksi yang telah ditimbang beratnya. Tabung reaksi tersebut disimpan di tempat terbuka agar kloroform menguap dan hanya minyak yang tertinggal. Perhitungan % berat total lipid menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ lipid} = \frac{(A \times B)}{C}$$

Keterangan : A : Berat minyak (gram)

B : Kadar larutan (ml)

C : Berat biomassa (gram)

(Lestari & Amrullah, 2013).

### 3.3 Analisis Data

Data hasil pengamatan biomassa, dan kandungan Lipid (%) dianalisis dengan analisis statistik dengan uji Anova (*Analysis of Variance*) satu faktor pada taraf kepercayaan 95%. Hipotesis yang digunakan adalah sebagai berikut:



$H_0$  : variasi dosis iradiasi tidak berpengaruh terhadap parameter pengamatan

$H_1$  : variasi dosis iradiasi berpengaruh terhadap parameter pengamatan

Jika  $H_0$  ditolak atau dosis iradiasi yang berbeda memberi pengaruh terhadap parameter, maka dilanjutkan dengan uji Tukey (Beda Nyata Jujur/*Honestly Significant Difference Test*) pada taraf 5%, dengan menggunakan program Minitab 16.

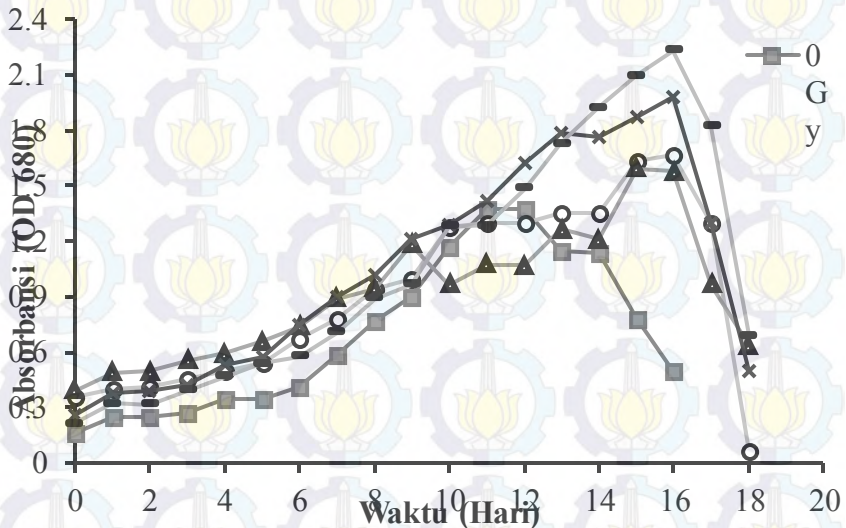
Analisis komposisi asam lemak dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) sesuai metode Song *et al.*, (2013). Analisis GC-MS dilakukan di Laboratorium Unit Layanan Pengujian (ULP) Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Sampel lipid dilarutkan dalam n-hexane dan dimasukkan ke dalam tabung derivatisasi. Larutan sampel kemudian diuapkan hingga kering dan ditambahkan 2 ml NaOH-Metanolat, ditutup rapat, divorteks lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 5 menit lalu didinginkan hingga suhu ruangan. Kemudian sampel diderivatisasi dengan menambahkan 2 ml BF<sub>3</sub>, ditutup rapat, divorteks lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 30 menit kemudian didinginkan hingga suhu ruangan. Selanjutnya ditambahkan 4 ml n-hexane dengan pipet volum, divorteks selama 2 menit lalu didiamkan hingga terpisah menjadi 2 fasa. Fasa n-hexane (lapisan atas) diambil hingga volum 500 µL dan dimasukkan ke dalam vial GC untuk analisa GC-MS.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Pertumbuhan *Botryococcus* sp.

Profil pertumbuhan mikroalga *Botryococcus* sp. tanpa dan dengan perlakuan hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dapat diamati pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Profil Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus* sp.

Keterangan : Gy : Gray (Dosis Radiasi)

Hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  memberikan pengaruh pada profil pertumbuhan mikroalga yang ditandai dengan fase eksponensial pertumbuhan yang lebih panjang 4-5 hari dibandingkan dengan mikroalga tanpa iradiasi (0 Gy/kontrol). Pada Gambar 4.1 tampak bahwa pada *Botryococcus* sp. dengan perlakuan 0 Gy (kontrol) memiliki fase lag hingga hari ke-1 pertumbuhan, kemudian fase log/eksponensialnya terjadi selama 11 hari dimulai pada hari ke-1 hingga hari ke-11 pertumbuhan. Lalu fase stasioner terjadi hingga hari ke-12, sedangkan hari

berikutnya terjadi penurunan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari (2013) yang menunjukkan pertumbuhan *Botryococcus* sp. dengan fase pertumbuhan log hingga hari ke 1, kemudian dilanjutkan dengan fase eksponensial yang pada penelitian ini terjadi hingga hari ke 10, kemudian terjadi fase stasioner selama 1 hari dilanjutkan dengan fase penurunan pertumbuhan.

Profil pertumbuhan mikroalga hasil iradiasi sinar Gamma memiliki fase lag terjadi hingga hari ke-1 pertumbuhan. Kemudian terjadi fase eksponensial, dimana pada mikroalga hasil iradiasi dengan dosis 2 Gy dan 4 Gy ini terjadi hingga hari ke-15, sedangkan pada mikroalga hasil iradiasi dengan dosis 6 Gy dan 10 Gy terjadi hingga hari ke-16. Setelah itu pertumbuhan mikroalga mulai mengalami penurunan pertumbuhan. Perbedaan durasi pertumbuhan ini merupakan hasil respon spesifik mikroalga terhadap perubahan kondisi lingkungannya (Hu & Gao, 2006). Penelitian tentang pengaruh radiasi sinar Gamma pada *Nitzschia* sp. juga menunjukkan bahwa mikroalga hasil iradiasi memiliki pertumbuhan yang meningkat seiring bertambahnya dosis radiasi (Cheng *et al*, 2014). Fase eksponensial yang mengalami perpanjangan durasi ini diduga akibat mikroalga yang diiradiasi mensintesis energi simpanan di dalam selnya untuk pertahanan hidupnya. Hal ini dilakukan karena radiasi menyebabkan stres oksidatif sel yang memicu sel untuk melakukan proses pertahanan untuk menjaga pertumbuhannya dan mengurangi efek stres tersebut (Bellou dan Aggelis, 2012).

#### **4.2 Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ terhadap Biomassa dan Kandungan Lipid Total *Botryococcus* sp.**

Pemanenan biomassa dan perhitungan total lipid mikroalga *Botryococcus* sp. dilakukan pada fase akhir eksponensial sesuai dengan profil pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan Yubin *et al* (2013) yang menyatakan bahwa akumulasi biomassa terbesar mikroalga adalah pada fase eksponensial yang memiliki laju



pertumbuhan yang tertinggi. Hasil rata-rata biomassa dan total lipid mikroalga *Botryococcus* sp. dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Pengaruh Iradiasi terhadap Biomassa dan Total lipid *Botryococcus* sp.

Dosis Radiasi	Biomassa (gram)	Total Lipid (%)
0 Gy	0,130±0,02 <sup>a</sup>	27,173±1,6 <sup>a</sup>
2 Gy	0,183±0,05 <sup>ab</sup>	23,772±6,7 <sup>a</sup>
4 Gy	0,133±0,03 <sup>a</sup>	29,764±5,0 <sup>ab</sup>
6 Gy	0,177±0,03 <sup>a</sup>	31,544±3,1 <sup>ab</sup>
10 Gy	0,333±0,11 <sup>b</sup>	41,044±4,0 <sup>b</sup>

Keterangan : \*Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil berbeda tidak nyata berdasarkan uji ANOVA dan uji lanjut Tukey pada taraf signifikansi 95%. Standar deviasi, n=3.

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa iradiasi berpengaruh pada biomassa dan total lipid mikroalga. Biomassa tertinggi mikroalga *Botryococcus* sp. tercapai pada kelompok perlakuan iradiasi dengan dosis 10 Gy. Hasil uji dengan Anova menunjukkan bahwa dosis iradiasi berpengaruh terhadap biomassa mikroalga *Botryococcus* sp. dengan  $P=0,009$  ( $P<0,05$ ) (Lampiran 4). Sehingga dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey. Hasil uji Tukey terhadap biomassa *Botryococcus* sp. menunjukkan antara perlakuan dosis 0 Gy (kontrol) dengan dosis radiasi 2 Gy, 4 Gy dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Biomassa *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma pada dosis 2 Gy dan 10 Gy juga tidak berbeda nyata. Sedangkan antara perlakuan kontrol dengan mikroalga hasil radiasi dosis 10 Gy menunjukkan beda nyata.

Hasil perlakuan dengan dosis radiasi 10 Gy yang memiliki biomassa tertinggi yang diduga bahwa pada *Botryococcus* sp. terjadi peningkatan aktivitas enzim pada proses fotosintesis yang menyebabkan pertumbuhan sel juga meningkat. Iradiasi sinar Gamma pada dosis rendah dapat meningkatkan aktivitas enzim, proliferasi sel, dan pertumbuhan sel (Chakravarty dan Sen, 2001). Penelitian hasil iradiasi sinar Gamma pada *Spirogyra*

menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim RuBisCo sehingga laju fotosintesis dan pertumbuhannya meningkat dibandingkan *wild-type* atau *Spirogyra* yang tidak diiradiasi (Yoon *et al.*, 2013).

Iradiasi sinar Gamma juga berpengaruh pada total lipid *Botryococcus* sp. seperti pada Tabel 4.1. Hasil uji dengan Anova menunjukkan bahwa dosis iradiasi berpengaruh terhadap kandungan total lipid dengan  $P=0,008$  ( $P<0,05$ ) (Lampiran 4). Sehingga dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey. Hasil uji Tukey terhadap kandungan lipid total *Botryococcus* sp. menunjukkan bahwa antara perlakuan dosis kontrol dengan dosis 2 Gy, 4 Gy, dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Hasil yang sama juga terjadi pada total lipid hasil iradiasi pada dosis 4 Gy, 6 Gy dan 10 Gy tidak berbeda nyata. Namun antara perlakuan kontrol dengan dosis 10 Gy menunjukkan beda nyata. Hal ini diduga terjadi akibat peningkatan aktivitas enzim yang berkorelasi dengan biosintesis lipid dari hasil iradiasi dosis 10 Gy pada *Botryococcus* sp.. Iradiasi sinar Gamma pada dosis tertentu dapat menyebabkan perubahan pada struktur dan metabolisme sel (Wi *et al.*, 2005).

Induksi mutagenesis dengan sinar Gamma merupakan mutasi acak, sehingga menyebabkan respon yang dihasilkan dari sel dapat berbeda-beda (Acquaah, 2007). Hasil analisis biomassa dan total lipid pada penelitian ini menunjukkan adanya respon yang berbeda pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 2 Gy yang memiliki biomassa tinggi namun total lipidnya lebih rendah dari kontrol. Sedangkan pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 4 Gy, 6 Gy dan 10 Gy yang biomassa dan kandungan lipidnya meningkat seiring dengan meningkatkan dosis iradiasi. Hal ini diduga terjadi karena pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 2 Gy terjadi peningkatan aktivitas enzim yang berkorelasi metabolisme karbohidrat, sedangkan pada *Botryococcus* sp. hasil iradiasi dosis 10 Gy, peningkatan aktivitas enzim terjadi lebih kearah metabolisme lipidnya. Lipid dan karbohidrat merupakan produk cadangan energi yang diproduksi oleh sel pada saat tercekam stres sebagai pertahanan hidupnya dan juga untuk

memproduksi netral lipid ( Li *et al.*, 2011). Perbedaan respon hasil iradiasi ini terjadi karena mutagenesis dengan sinar Gamma menginduksi perubahan genetik yang berdasarkan pada dosis iradiasi (Ahlowowalia dan Maluszynski, 2001). Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Tammam *et al.* (2005) pada mikroalga *Dunaliella salina* yang menunjukkan adanya empat mutan dengan variasi nukleotida berbeda hasil iradiasi sinar Gamma dengan dosis yang berbeda.

#### 4.3 Iradiasi Sinar Gamma $^{60}\text{Co}$ Terhadap Komposisi Asam Lemak *Botryococcus* sp.

Analisis komposisi asam lemak pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry* (GC-MS). Analisis ini dilakukan pada *Botryococcus* sp. perlakuan kontrol dan hasil radiasi 10 Gy karena memiliki perbedaan yang signifikan pada biomassa dan persentase kandungan total lipidnya. Hasil analisis kromatograph pada mikroalga *Botryococcus* sp. kontrol ( 0 Gy) dapat dilihat pada Lampiran 5. Penentuan komposisi asam lemak dilakukan berdasarkan kesesuaian fraksinasi lipid mikroalga dengan standar pada GC-MS. Total persentase asam lemak didapatkan berdasarkan luas area dibawah kurva pada kromatograph (Lampiran 5). Hasil analisis profil asam lemak dapat diamati pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Profil Asam Lemak *Botryococcus* sp. 0 Gy (Kontrol) dan Hasil Iradiasi 10 Gy.

Komposisi Asam Lemak	Total (%)	
	Kontrol	10 Gy
Asam Kaprat (C10:0)	3,15%	0,49%
Asam Miristat (C14:0)	2,32%	1,42%
Asam Palmitat (C16:0)	33,44%	26,72%
Asam Palmitoleat (C16:1)	-	2,20%
Asam 7,10 Heksadekadienoat (C16:2)	-	2,37%
Asam Stearat (C18:0)	9,66%	9,38%

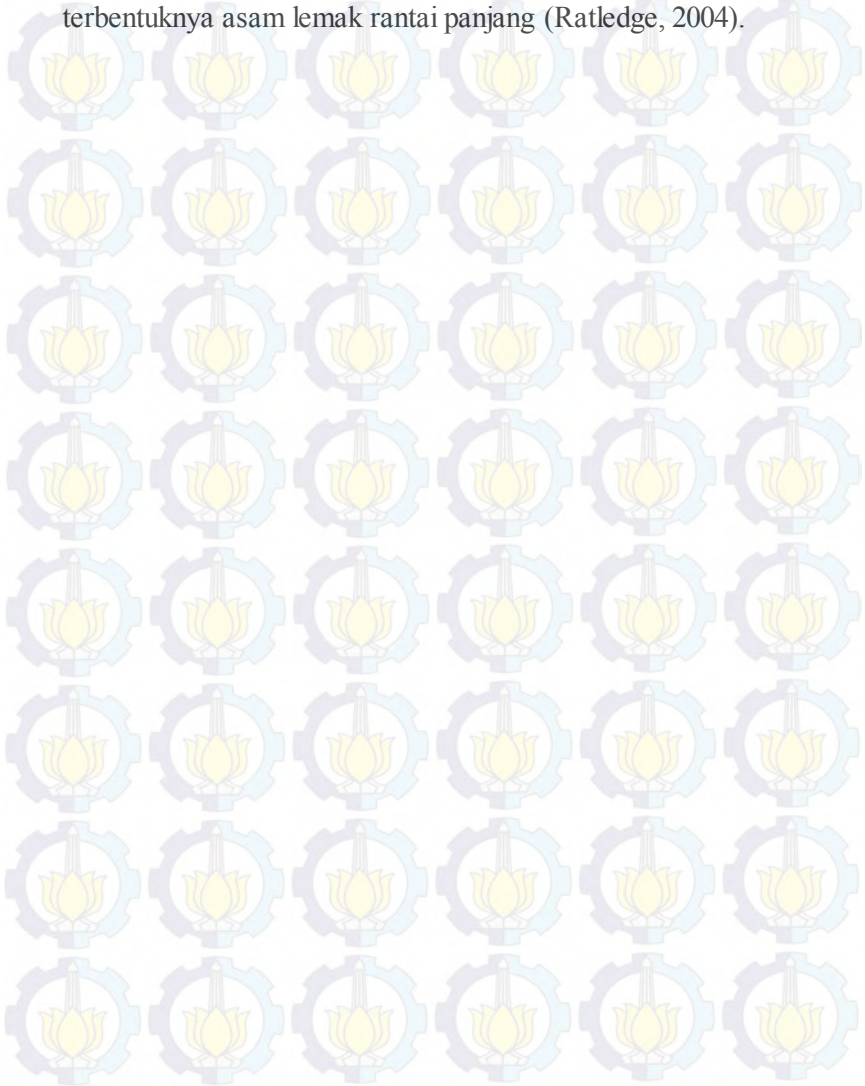


Asam Oleat (C18:1)	36,53%	33,84%
Asam Linoleat (18:2)	14,90%	16,57%
Asam Linolenat (C18:3)	-	1,40%
Asam Arakidat (C20:0)	-	0,82%
Asam Arakidonat (C20:4)	-	3,44%
Asam Lignoserat (C24:0)	-	1,39%

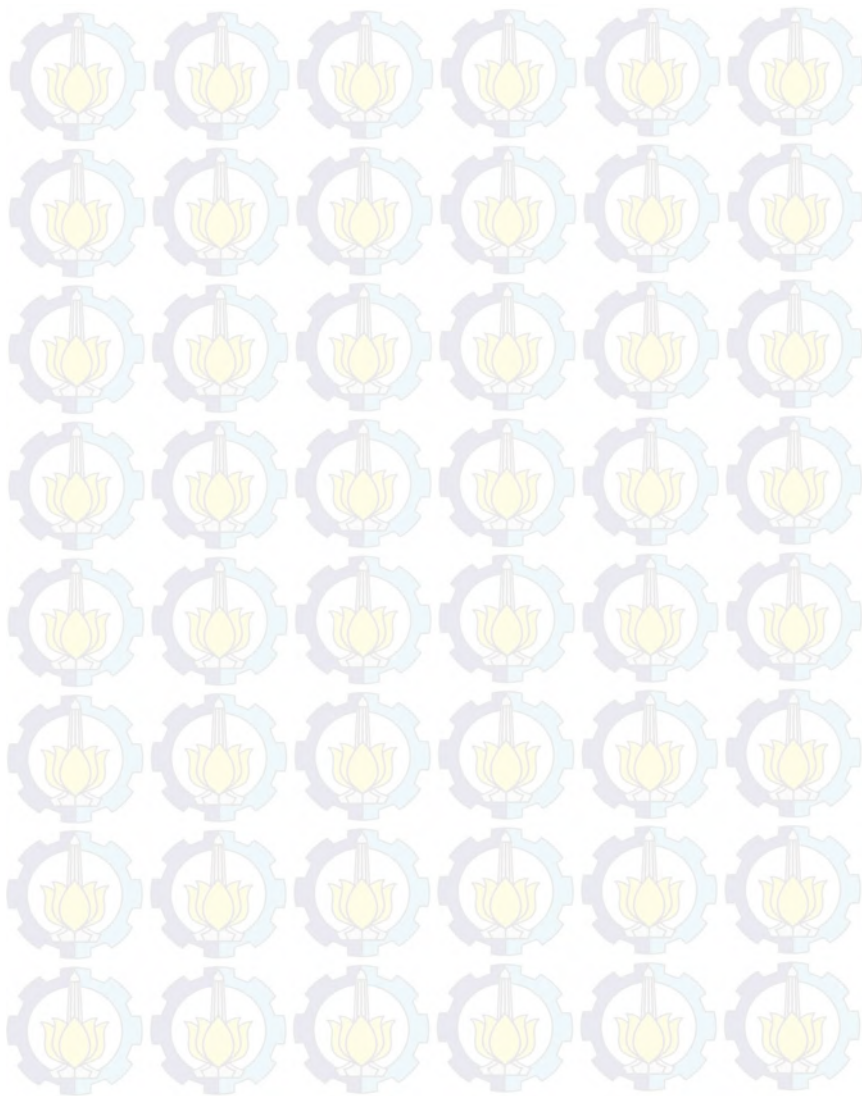
Analisis GC-MS yang diperoleh menunjukkan adanya 6 jenis asam lemak yang terkandung dalam lipid *Botryococcus* sp. kontrol (0 Gy) seperti pada Tabel 4.2. Profil asam lemak yang terkandung didominasi oleh asam lemak dengan rantai karbon 16 dan 18, seperti asam palmitat, asam linoleat, asam oleat dan asam stearat. Persentase asam lemak yang tinggi adalah asam oleat (36,53%) dan asam palmitat (33,44%). Komposisi lipid pada mikroalga *Botryococcus* memang memiliki profil asam lemak yang utama yaitu asam oleat (C18:1), asam palmitat (C16:0), asam linolenat (C18:3), asam stearat (C18:0) dan asam linoleat (C18:2) (Knothe, 2008). Asam stearat dan asam palmitat termasuk jenis asam lemak jenuh, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat termasuk asam lemak tak jenuh (Canakci, 2003).

Analisis profil asam lemak pada lipid *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  10 Gy menunjukkan komposisi yang berbeda. Berdasarkan tabel 4.2, *Botryococcus* sp. hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dosis 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak. Namun asam lemak yang mendominasi tetap terdiri dari asam oleat sebesar 32,17% dan asam palmitat sebesar 26,72%. Perbedaan komposisi asam lemak pada mikroalga *Botryococcus* sp. kontrol dan hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  dosis 10 Gy diduga terjadi karena enzim yang relevan dengan proses pemanjangan asam lemak diinduksi sehingga terjadi pemanjangan asam lemak menjadi asam arakidonat, asam arakidat dan asam lignoserat. Sehingga persentase C16 dan C18 menurun karena adanya proses pemanjangan ini. Radiasi sinar Gamma dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel mempengaruhi aktivitas enzim di dalam sel (Agarwal *et al.*, 2008). Hal ini sesuai dengan

penelitian mengenai efek sinar Gamma terhadap *Chlorella* sp., yang mengalami penurunan pada asam lemak C16 dan C18 akibat terbentuknya asam lemak rantai panjang (Ratlidge, 2004).



**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**





## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Iradiasi Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  pada mikroalga *Botryococcus* sp. berpengaruh terhadap biomassa dan kandungan lipidnya. Namun antara perlakuan kontrol (0 Gy) dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 2 Gy, 4 Gy dan 6 Gy tidak berbeda nyata. Sedangkan antara kontrol dengan mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy berbeda nyata. Biomassa dan persentase kandungan total lipid tertinggi terdapat pada mikroalga hasil iradiasi dosis 10 Gy sebesar 0,333 gram biomassa dan 41% total lipid. Komposisi asam lemak mikroalga hasil iradiasi 10 Gy memiliki 12 jenis asam lemak, dimana asam lemak rantai panjang meningkat dan asam lemak rantai pendek menurun.

#### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian ini adalah diperlukan penelitian lanjutan mengenai profil protein mikroalga hasil iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  untuk mengetahui perubahan ekspresi proteinnya akibat induksi mutagenesis.

## DAFTAR PUSTAKA

Acquaah, G. 2007. **Principles of Plant Genetics and Breeding**. Blackwell Publishing. USA, UK, Australia. 569 p.

Agarwal R, Rane SS, Sainis JK. Effects of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  radiation on thylakoid membrane functions in *Anacystis nidulans*. **J Photochem Photobiol B: Biol** 2008;91(1):9e19.

Ahloowalia BS, Maluszynski M. 2001. Induced mutations – a new paradigm in plant breeding. **Euphytica** 118:167–173.

Andersen, R.A. 2005. **Algal Culturing Techniques**. San Diego : Elsevier Inc.

Anita, Natrici, Yusuf, M., dan Ferbriana. 2010. Pemanfaatan Molase sebagai Nutrient Pengkayaan pada Kultur *Nannochloropsis* sp. **Lentera Bio**. 1 : 55-61.

Amin S. 2009. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. **Energy Convers Manage**;50:1834–40.

Araujo GS, Matos LJ, Goncalves LR, Fernandes FA, Farias WR. 2011. Bioprospecting for oil producing microalgal strains: evaluation of oil and biomass production for ten microalgal strains. **Bioresour Technol**;102:5248–50.

Bajpai, P. dan P.K. Bajpai. 1993. Eicosapentaenoic Acid (EPA) Production from Microorganisms : A Review. **Journal of Biotechnology** 30 : 161-183.

Balai Budidaya Air Payau. 2013. **Standart Operasional Prosedur BBAP Situbondo**. Situbondo : Direktorat Jendral Perikanan dan Budidaya Kementrian Kelautan dan Perikanan.

Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U.C., 2002. *Botryococcus braumii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Crit. Rev. Biotechnol.* 22, 245–279.

Barnwal BK, Sharma MP. 2005. Prospects of biodiesel production from vegetable oils in India. *Renew Sust Energy Rev*;9:363–78.

Barus, T. A. 2004. **Pengantar Limnologi Studi Tentang Ekosistem Air Daratan**. Medan: USU Press.

Bellou Stamatia, Mohammed N. Baeshen, Ahmed M. Elazzazy , Dimitra Aggeli. 2013. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives Fotoon Sayegh, George Aggelis. *Biotechnology Advances* 32 1476–1493.

Bligh, E.G. and Dyer, W. J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can.J.Biochem.Physiol.* 37 : 911 - 917.

Boyer, R. 2002. **Concepts in biochemistry. 2nd Edition**. Australia : Brooks / Cole Thomson Learning.

Cahyaningsih, Sri, dkk . 2009. **Produksi Pakan Alami**. Situbondo: Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo

Canakci, M. dan Van Gerpen, J.V. 2003. A Pilot Plant To Produce Biodiesel From High Free Fatty Acid Feedstocks. *Trans Asae* 46 (4) : 945 - 954.

Chahal, G.S. and S.S. Gosal. 2006. Mutation Breeding. In Principles and Procedure of plant breeding. Biotechnology and Conventional Approaches. **Alpha Sience International**; Ltd. 604 p.



Chakravarty, B. dan S. Sen, 2001. Enhancement of Regeneration Potential and Variability by Gamma Irradiation in Cultured Cell of *Scilla indica*. **Biologia Plantarum**, (2): 9-193.

Chen CY, Yeh KL, Aisyah R, Lee DJ, Chang JS. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. **Bioresour Technol**;102:71–81.

Cheng J, Huang Y, Feng J, Sun J, Zhou J, Cen K. 2014. Mutate *Chlorella* sp. by nuclear irradiation to fix high concentrations of CO<sub>2</sub>. **Bioresource Technol** 136:496–501.

Chisti Y. *et al.* 2007. Biodiesel from microalgae. **Biotechnol Adv**;25:294–306.

Dahlqvist, A.U., Stahl, M., Lenmen, A., Banas, M., Lee, I., Sandager, Ronne, H., and Stymne, S. 2000. Phospholipid diacylglycerol acyltransferase: an enzyme that catalyzes the acyl-coa-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. **Proceeding of national academy of sciences**. 97(12) : 6487-6492.

Das UN: Essential fatty acids - A review. **Current Pharmaceutical Biotechnology** 2006, 7(6):467-482.

Demirbas, A., 2009. Production of biodiesel from algae oils. **Energy Source Part A** 31 (2), 163–168.

Derner, R. B. et al. Microalgae, products and applications (Microalgas, produtos e aplicações). **Ciência Rural** 2006; 36(6) 1959-1967.

Duong, V.T., Li, Y., Nowak, E., and Schenk, M. 2012. Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production. **Energies**. 5 : 1835-1849.

Fedorov AS, Tsygankov AA, Rao KK, Hall DO (2001) Production of hydrogen by an *Anabaena variabilis* mutant in photobioreactor under aerobic outdoor conditions. In: Miyake J, Matsunaga T, San Pietro A (eds) **BioHydrogen II**. Elsevier, New York, pp 223–228.

Felizardo P, Correia MJ, Raposo I, Mendes JF, Berkemeier R, Bordado JM. 2006. Production of biodiesel from waste frying oils. **Waste Manage**;26:487–94.

Fuma S, Ishii N, Takeda H, Miyamoto K, Yanagisawa K, Doi K, et al. Effects of acute g-irradiation on the aquatic microbial microcosm in comparison with chemicals. **J Environ Radioact** 2009;100(12):1027e33.

Gouveia, Joao D. G. 2010. The Effects of Light Quality on the Morphology and Hydrocarbon Production of *Botryococcus braunii*. **Biosciences**. University of Exeter.

Hannon, M., J. Gimpel, M. Tran, B. Rasala and S. Mayeld, 2010. Biofuels from algae: challenges and potential, **Biofuels**., 1(5), 763–784.

Harsonto, S. 2009. Analisis asam lemak mikroalga *Nannochloropsis oculata*. Program Magister Bidang Keahlian Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA. **Tesis**. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 72 pp.

Hu, H. and Gao, K. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO<sub>2</sub> concentration. **Biotechnol. Lett.**, 28: 987–992.

Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. **Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami untuk**

**Pembenihan Organisme Laut.** Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 106 hal.

Hwang, J. W. Ahn, S. J. Kwon, J. B. Kim, S. H. Kim, S. Y. Kang and D. S. Kim. 2014. Selection and molecular characterization of a high tocopherol accumulation rice mutant line induced by gamma irradiation, **Mol. Biol. Rep.**, 41(11), 7671–7681.

John, F. M., dan James, L. S. 2008. **Introduction to the iology of Marine Life**. Canada: Jones and Bartlet Learning.

Jong Se Han, Minchul Yoon , Minho Joe, Hyun Park, Sung Gu Lee, dan Pyung Cheon Lee. 2014. Development of microalga *Scenedesmus dimorphus* mutant with higher lipid content by radiation breeding. **Bioprocess Biosyst Eng** 37:2437–2444.

Jun Cheng, Jia Feng, Jing Sun, Yun Huang, Junhu Zhou, dan Kefa Cen. 2014. Enhancing the lipid content of the diatom *Nitzschia* sp. by 60Co-g irradiation mutation and high-salinity domestication State Key Laboratory of Clean Energy Utilization. **China Energy** 78 (2014) 9e15.

Kapdan IK, Kargi F (2006) Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme Microb Technol** 38:569–582.

Kabinawa, I.N.K. 2008. Biodiesel energi terbarukan dari mikroalga. **Warta Pertamina**. (9): 31–35.

Kalpesh K. Sharma, Holger Schuhmann and Peer M. Schenk. 2012. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. **Energies** 2012, 5, 1532-1553; doi:10.3390/en5051532.

Kawaroe, M. 2010. **Mikroalga untuk biofuel**. Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi: Institut Pertanian Bogor.



Kiong, A.L.P., Lai, G.A., Hussein, S., and Harun, A.R. 2008. Physiological responses of *Orthosiphon stamineus* plantles to gamma irradiation. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, 2(2): 135–149.

Kiran B, Kumar R, Deshmukh D. 2014. **Perspectives of microalgal biofuels as a renewable source of energy**. Energy Convers Manage 2014.

Knothe, G., 2008. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. **Energy Fuels** 22 (2), 1358–1364.

Kovacs E, Keresztes A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. **Micron** 002;33(2):199e210.

Kovács, E., and Keresztes, A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. **Micron**, 33(2): 199–210.

Kusmiyati, Ni wayan Sri A. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. **Biodiversitas** ISSN: 1412-033X.

Lestari, S., dan Amrullah. 2013. Profil Pertumbuhan dan Analisis Kandungan Karbohidrat, Protein, Lipid Mikroalga Hijau Biru pada Medium AF-6 dengan Cara Penambahan Substrat Limbah Ampas Sagu. **Jurnal UPI**. 16 : 265-271.

Lestari, E.G. 2012. Combination of somaclonal variation and mutagenesis for crop improvement. **J. AgroBiogen** 8(1):38-44.

Li, Y., Han, D., Sommerfeld, M., Hu, Q., 2011. Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalga *Pseudochlorococcum* sp. (Chlorophyceae) under nitrogen-limited conditions. *Bioresour. Technol.* 102 (1), 123–129.

Cheng LH, Xu XH, Zhang L, Chen HL. 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. **Bioresour Technol**;101:6797–804.

Mata TM, Martins AA, Caetano NS. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renew Sust Energy Rev**;14:217–32.

McKee, T., and McKee, J.R. 2003. **Biochemistry: The Molecular Basis Of Life**. Edisi III. Boston: The McGraw-Hill. Hal. 68-71.

Metting FB. 1996. Biodiversity and application of microalgae. *J Ind. Microbiol*;17:477–89.

Pal D, Khozin-Goldberg I, Cohen Z, Boussiba S. 2011. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. **Appl Microbiol Biotechnol**;90:1429–41.

Qin, Song., Lin Hanzhi., Peng Jiang. 2009. “Advances in Genetic Engineering of Marine Algae”. **Biotechnology Advance**, 1602-1613.

Ratledge, C., 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single Cell Oil production. **Biochimie** 86, 807–815.

Rezanka T, Lukavsky J, Nedbalova L, Sigler K. 2011. Effect of nitrogen and phosphorus starvation on the polyunsaturated triacylglycerol composition, including positional isomer distribution, in the alga *Trachydiscus minutus*. **Phytochemistry**;72:2342–51.

Romimohtarto, K. 2004. **Meroplankton Laut:Larva Hewan Laut yang Menjadi Plankton**. Djambatan: Jakarta. 214 pp.

Sari, Adelyna M., Hesty Eka Mayasari, Rachimoellah, Siti Zullaikah. 2013. Pertumbuhan dan Kandungan Lipida dari *Botryococcus braunii* dalam Media Air Laut. **JURNAL TEKNIK POMITS** Vol. 2, No. 1, (2013) ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print).

Sawayama, S., Inoue, S., and Yokoyama, S. 1995. Phylogenetic position of *Botryococcus braunii* based on small subunit of ribosomal RNA sequence data. **J. Phycol.** **31**: 419.

Schenk PM, Thomas-Hall SR, Stephens E, Marx UC, Mussnug JH, Posten C, Kruse O, Hankamer O.. 2008. Second Generation Biofuels: High Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. **Bioenerg Res** ;1:20-43.

Sierra E, Acién FG, Fernández JM, García JL, González C, Molina E. 2008. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. **Chem Eng J**;138:136–47.

Soeranto, H. 2003. **Peran iptek nuklir dalam pemuliaan untuk mendukung industri pertanian.** hlm. 308-316. Batan. Yogyakarta.

Song MM, Pei HY, Hu WR, Ma GX. 2013. Evaluation of the potential of 10 microalgal strains for biodiesel production. **Bioresour Technol**;141:245–51.

Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. **J Biosci Bioeng**;101:87–96.

Susilowati, Rini dan Sri Amini. 2010. Kultivasi Mikroalga *Botryococcus braunii* sebagai Sumber Bahan Energi Alternatif dengan Sistem Indoor dan Outdoor. **Prosiding Forum Teknologi Akuakultur.**



Tammam AA, Allam MM, Osman M. 2005. Mutagenesis of *Dunaliella salina*. **Int J Agric Biol** 7:477–481.

Taylor L. Weiss, Robyn Roth, Andreas Holzenburg,a,d,f Timothy P. Devarenne,a dan Ursula Goodenoughc. 2012. Colony Organization in the Green Alga *Botryococcus braunii* (Race B) Is Specified by a Complex Extracellular Matrix. **Eukaryotic Cell** p. 1424–1440

Tomas, C. R. 1977. **Identifying Marine Phytoplankton**. Academic press. 858p USA.

Wi, S.G., Chung, B.Y., Kim, J.H., Baek, M.H., Yang, D.H., Lee, J.W., and Kim, J.S. 2005. Ultrastructural changes of cell organelles in Arabidopsis stem after gamma irradiation. **J. Plant Biol.** 48(2): 195-200.

Wu LF, Chen PC, Huang AP, Lee CM. 2012. The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater. **Bioresour Technol**;113:14–8.

Yang, F., M. Hanna and R. Sun, 2012. Value-added uses for crude glycerol—a byproduct of biodiesel production, **Biotechnol. Biofuels**, 5, 13.

Yoon Minchul, Jong-il Choi, Gwang Hoon Kim, Dong-Ho Kim, Don-Hee Park. 2013. Proteomic analysis of *Spirogyra* varians mutant with high starch content and growth rate induced by gamma irradiation. **Bioprocess Biosyst Eng** DOI 10.1007/s00449-013-0902-x.

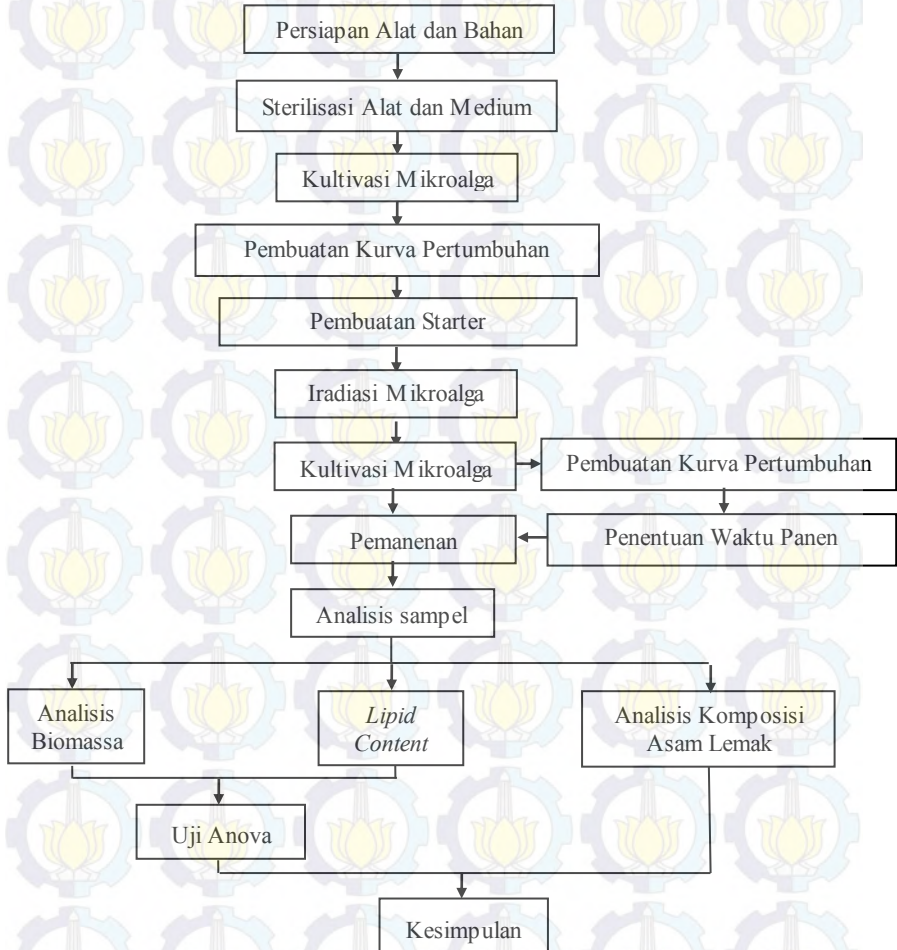
Yubin Ma, Zhiyao Wang,Ming Zhu,Changjiang Yu,Yingping Cao, Dongyuan Zhang, dan Gongke Zhou. 2013. Increased lipid productivity and TAG content in *Nannochloropsis* by heavy-ion irradiation mutagenesis. **Bioresource Technology** 136 (2013) 360–367.

Zahara, T., Ali, M., Salam A., and Sarima, J. 2003. Studies on Biodiversity in relation to seasonal variations in water of River Indus at Ghazi Ghatt, Punjab, Pakistan. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 6 (21) : 1840 – 1844.

Zhang, L., G. R. Hu, Y. FanC. Yuan, J. F. Wang, W. J. Li, Q. Hu and F. L. Li. 2013. Enhanced lipid productivity and photosynthesis efficiency in a *Desmodesmus* sp. mutant induced by heavy carbon ions, **PLoS One**, 8(4), e60700.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian





## Lampiran 2. Tabel Hasil Penelitian Biomassa dan Kandungan Lipid

Tabel Hasil Penelitian Biomassa Kering (gram) *Botryococcus* sp.

Perlakuan	Ulangan	<i>Botryococcus</i> sp. (B)
Dosis Radiasi (D)	0 Gy	1 0,13
		2 0,15
		3 0,11
	2 Gy	1 0,13
		2 0,23
		3 0,19
	4 Gy	1 0,11
		2 0,13
		3 0,16
	6 Gy	1 0,15
		2 0,21
		3 0,17
	10 Gy	1 0,44
		2 0,34
		3 0,22

Tabel Rancangan Penelitian Total Lipid *Botryococcus* sp.

Dosis Radiasi (D)	Perlakuan	Ulangan	<i>Botryococcus</i> sp.
	0 Gy	1	27,8
		2	25,4
		3	28,3
	2 Gy	1	31,2
		2	18,3
		3	21,7
	4 Gy	1	35,2
		2	28,9
		3	25,2
	6 Gy	1	34,5
		2	28,3
		3	31,8
	10 Gy	1	37,0
		2	45,1
		3	41,0

### Lampiran 3. Perhitungan Kandungan Lipid Total

Diketahui : A = Berat minyak (gram)  
 B = Kadar larutan (ml)  
 C = Berat biomassa (gram)  
 Ditanya : Kandungan Total Lipid (%) ?  
 Jawab :

Perhitungan Total Lipid B0 Pengulangan I

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0362 \times 10)}{0,013} \\ &= 27,8 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B0 Pengulangan II

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0381 \times 10)}{0,015} \\ &= 24,4 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B0 Pengulangan III

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0311 \times 10)}{0,011} \\ &= 28,3 \%\end{aligned}$$



Perhitungan Total Lipid B2 Pengulangan I

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0406 \times 10)}{0,013} \\ &= 31,2 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B2 Pengulangan II

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0422 \times 10)}{0,023} \\ &= 18,3 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B2 Pengulangan III

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0413 \times 10)}{0,019} \\ &= 21,7 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B4 Pengulangan I

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0387 \times 10)}{0,011} \\ &= 35,2 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B4 Pengulangan II

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0376 \times 10)}{0,013} \\ &= 28,9 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B4 Pengulangan III

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0403 \times 10)}{0,016} \\ &= 25,2 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B6 Pengulangan I

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0518 \times 10)}{0,015} \\ &= 34,5 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B6 Pengulangan II

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0595 \times 10)}{0,021} \\ &= 28,3 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B6 Pengulangan III

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,054 \times 10)}{0,017} \\ &= 31,8 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B10 Pengulangan I

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,1628 \times 10)}{0,044} \\ &= 37,0 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B10 Pengulangan II

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,1533 \times 10)}{0,034} \\ &= 45,1 \%\end{aligned}$$

Perhitungan Total Lipid B10 Pengulangan III

$$\begin{aligned}\% \text{ lipid} &= \frac{(A \times B)}{C} \\ &= \frac{(0,0903 \times 10)}{0,022} \\ &= 41,0 \%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Hasil Uji Anova dan Uji Lanjut Tukey



Hasil uji Anova pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  terhadap biomassa *Botryococcus* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Radiasi	4	0,08271	0,02068	6,22	0,009
Eror	10	0,03327	0,00333		
Total	14	0,11597			

Hasil uji Tukey pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  terhadap biomassa *Botryococcus* sp.

Radiasi	N	Rata-rata	Grup
0 Gy	3	0,13000	A
2 Gy	3	0,18333	AB
4 Gy	3	0,13333	A
6 Gy	3	0,17667	A
10 Gy	3	0,33333	B

### Hasil Uji Anova terhadap Kandungan Total Lipid

Hasil uji Anova pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  terhadap total lipid *Botryococcus* sp.

Sumber Keragaman	Derajat Kebebasan	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	P
Radiasi	4	506.1	126.5	6.42	0,008
Eror	10	197,0	19.7		
Total	14	703,2			

Hasil uji Tukey pengaruh iradiasi sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$  terhadap total lipid *Botryococcus* sp.

Radiasi	N	Rata-rata	Grup
0 Gy	3	27,173	A
2 Gy	3	23,772	A
4 Gy	3	29,764	AB
6 Gy	3	31,544	AB
10 Gy	2	41,029	B

## Lampiran 5. Analisis GC-MS

### Metode Pemeriksaan GC-MS Profil Asam Lemak di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga

#### Cara Kerja

1. Sampel dilarutkan dalam heksana dan dimasukkan ke dalam tabung derivatisasi. Larutan sampel kemudian diuapkan hingga kering.
2. Sampel disubunkan dengan menambahkan 2 ml NaOH-Metanolat, ditutup rapat, divorteks sebentar dan dipanaskan pada suhu 90 C selama 5 menit, lalu didinginkan hingga suhu ruangan
3. Diderivatisasi dengan menambahkan 2 ml BF<sub>3</sub>, ditutup rapat, divorteks sebentar dan dipanaskan pada suhu 90 C selama 30 menit, lalu didinginkan hingga suhu ruangan
4. Ditambahkan 4.0 ml n-heksan p.a dengan pipet volume, divorteks sekitar 2 menit lalu didiamkan hingga terpisah menjadi 2 fasa
5. Fasa n-heksan (lapisan atas) diambil dan dikisatkan hingga volumenya 500 µL dan kemudian dimasukkan kedalam vial GC untuk dianalisa dengan GC-MSD.

#### Kondisi Alat Kromatografi Gas

Instrument	= Agilent 6980N Network GC System dengan autosampler, Detektor Agilent 5973 inert
MSD	
Kolom	= J&W Scientific, HP-5 5% fenilmetilsiloksan 30 m, 0.32mm, 0.25um
Inlet	= Splitless, 280C
Oven	= terprogram; 170C (1 menit) -> 3C/menit -> 210C (5menit) -> 10C/menit -> 290 (2 menit)
Flow dlm Kolom	= 1 ml/menit (konstan)
Aux	= 280C
MS Quad	= 150C
MS Source	= 230C
Scan Mode	= 40-450 amu
Solvent delay	= 0 menit
Pustaka	= Wiley versi 8.0
Volume injeksi	= 5µL



### Grafik Analisis lipid GC-MS *Botryococcus* sp. 0 Gy (Kontrol)



## Laporan Analisis lipid GC-MS *Botryococcus* sp. 0 Gy (Kontrol)

### Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\  
 Data File : 15011605.D  
 Acq On : 15 Jan 2016 16:47  
 Operator : C001  
 Sample : Sampel 1-25  
 Misc : 1uL splitless  
 ALS Vial : 33 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: rteint.p  
 Integrator: RTE  
 Smoothing : ON  
 Sampling : 1  
 Start Thrs: 0.2  
 Stop Thrs : 0

Filtering: 5  
 Min Area: 5 % of largest Peak  
 Max Peaks: 100  
 Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 100 prefer < Tangent else baseline drop >  
 Peak separation: 5

Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\PROFILE1.M  
 Title :

Signal : TTC

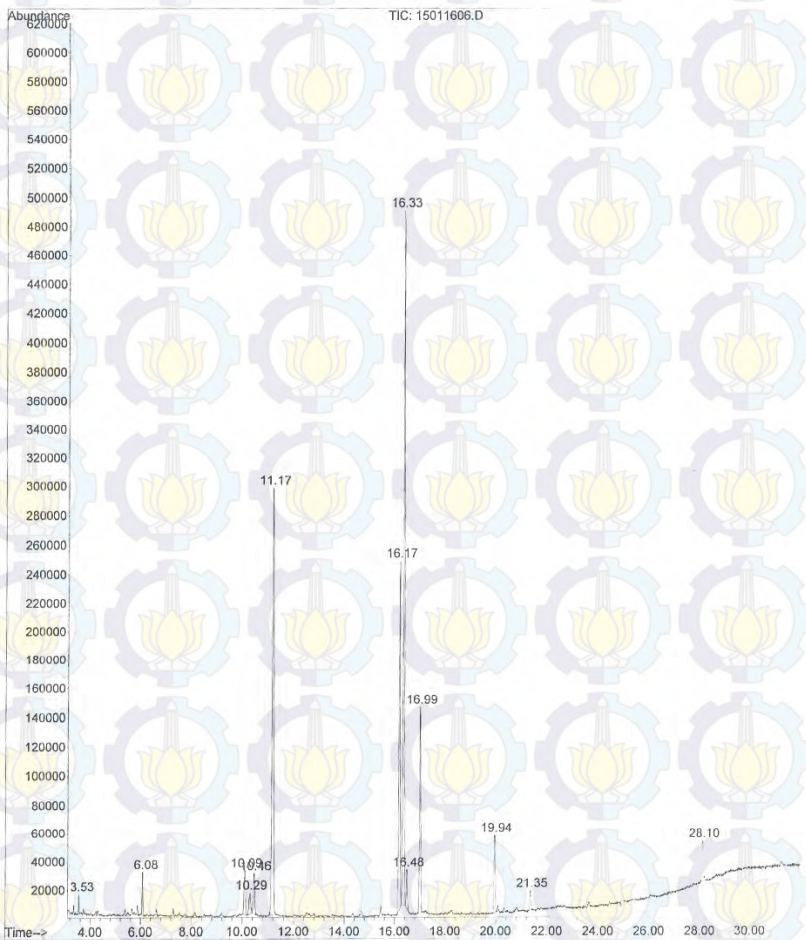
peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	3.537	82	96	107	rBB4	20338	45776	8.63%	3.154%
2	6.075	621	629	643	rBB6	14249	33668	6.35%	2.319%
3	11.166	1677	1698	1722	rBB4	111158	485379	91.54%	33.439%
4	16.171	2734	2749	2767	rBB5	66861	216250	40.78%	14.898%
5	16.332	2768	2783	2802	rBB4	159636	530226	100.00%	36.529%
6	16.994	2908	2922	2940	rBB3	44417	140233	26.45%	9.661%

Sum of corrected areas: 1451532

PROFILE1.M Fri Jan 15 17:32:21 2016

## Grafik Analisis lipid GC-MS *Botryococcus* sp. 10 Gy

File : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\15011606.D  
Operator : C001  
Acquired : 15 Jan 2016 17:34 using AcqMethod FAME.M  
Instrument : Instrument #1  
Sample Name: Sampel 1-26/010  
Misc Info : 1ul splitless  
Vial Number: 34





# Laporan Analisis lipid GC-MS *Botryococcus* sp. 10 Gy

## Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\  
 Data File : 15011606.D  
 Acq On : 15 Jan 2016 17:34  
 Operator : C001  
 Sample : Sampel 1-26  
 Misc : 1uL splitless  
 ALS Vial : 34 Sample Multiplier: 1

### Integration Parameters: rteint.p

Integrator: RTE  
 Smoothing : ON  
 Sampling : 1  
 Start Thrs: 0.2  
 Stop Thrs : 0  
 Filtering: 5  
 Min Area: 2 % of largest Peak  
 Max Peaks: 100  
 Peak Location: TOP

If leading or trailing edge < 100 prefer < Tangent else baseline drop >  
 Peak separation: 5

Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\PROFILE1.M  
 Title :

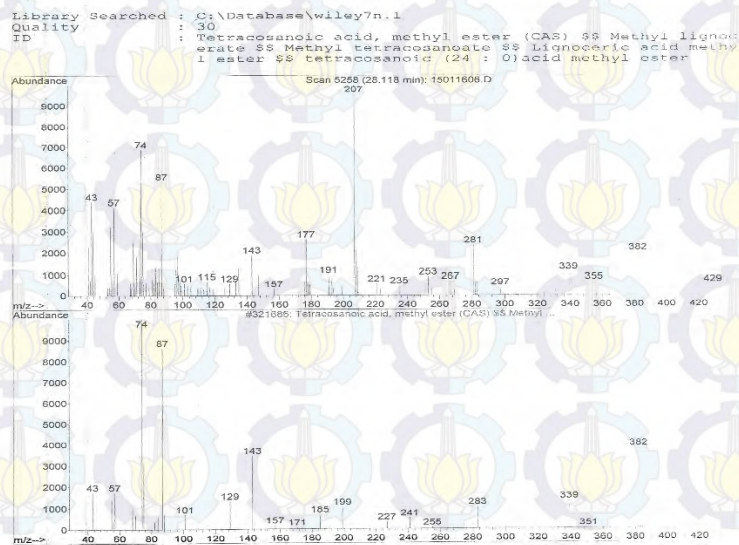
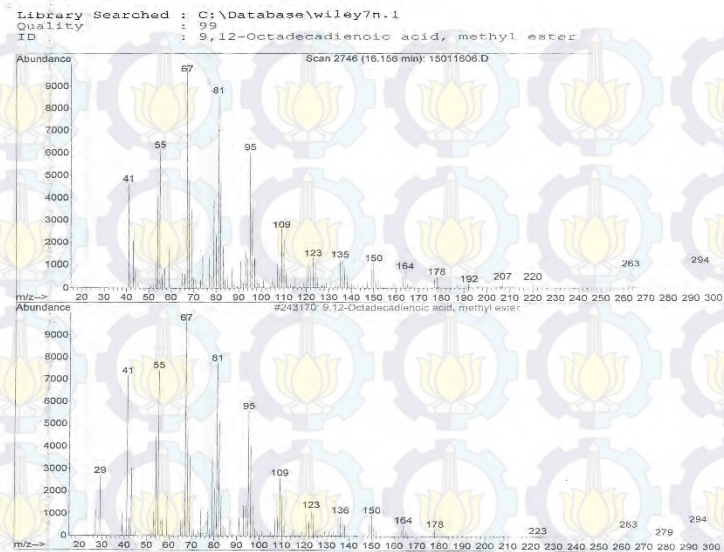
Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	3.532	88	95	101	rM 4	13789	23949	1.53%	0.494%
2	6.075	619	629	643	rBB3	30071	69070	4.43%	1.424%
3	10.094	1458	1473	1489	rBB6	30809	115129	7.38%	2.373%
4	10.294	1494	1515	1534	rBB6	14888	68235	4.37%	1.406%
5	10.456	1534	1549	1566	rBB8	28302	106940	6.85%	2.204%
6	11.166	1673	1698	1729	rBB2	296553	1296309	83.06%	26.718%
7	16.170	2733	2749	2767	rBB3	243876	804042	51.52%	16.572%
8	16.332	2767	2783	2801	rBB2	482419	1560668	100.00%	32.167%
9	16.475	2803	2813	2832	rBB7	27163	80826	5.18%	1.666%
10	16.990	2906	2921	2941	rBB3	143442	454887	29.15%	9.376%
11	19.942	3529	3541	3560	rBB5	55397	166914	10.70%	3.440%
12	21.351	3828	3837	3850	rBB7	14283	39911	2.56%	0.823%
13	28.104	5248	5255	5272	rBB5	25416	64922	4.16%	1.338%

Sum of corrected areas: 4851802

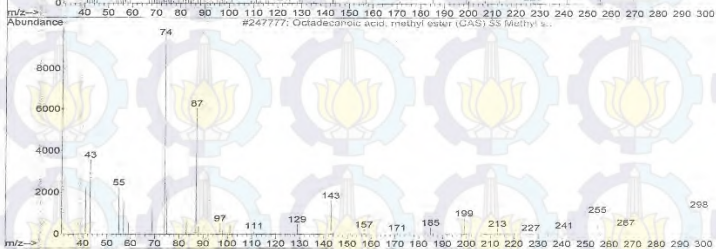
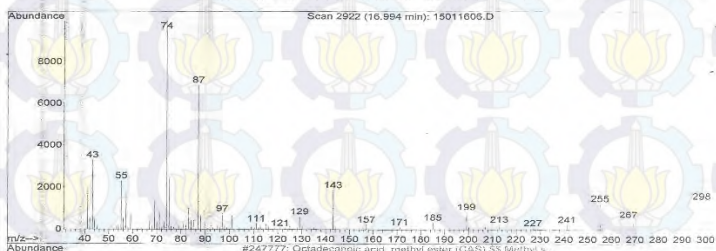
PROFILE1.M Mon Jan 18 20:10:05 2016

## Standar Penentuan Asam Lemak



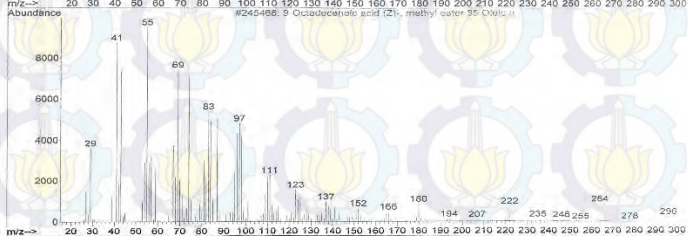
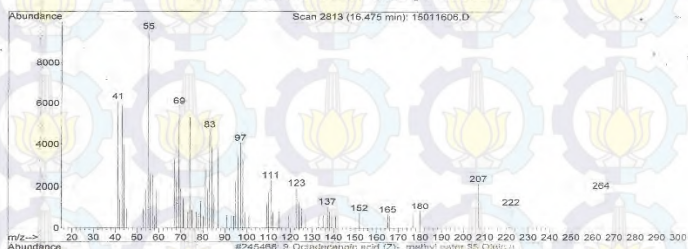
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1  
 Quality : 99  
 ID :

Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) 99 Methyl stearate  
 99 Methyl octadecanoate 99 Methyl n-octadecanoate 99  
 Stearic acid methyl ester 99 Kemester 9718 99 Stearic a  
 cid, methyl ester 99 n-Octadecanoic acid methyl ester 9  
 9 Methyl-Octadecanoate 99 Methyl 99



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1  
 Quality : 93  
 ID :

9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester 99 Oleic acid, m  
 ethyl ester 99 Emory oleic acid ester 2301 99 Methyl ol  
 9-9-octadecenoate 99 Methyl olate 99 (Z)-9-Octadeceno  
 c acid methyl ester 99 Methyl-9-octadecenoate 99 cis-9-  
 Octydecenoic acid, methyl ester 99

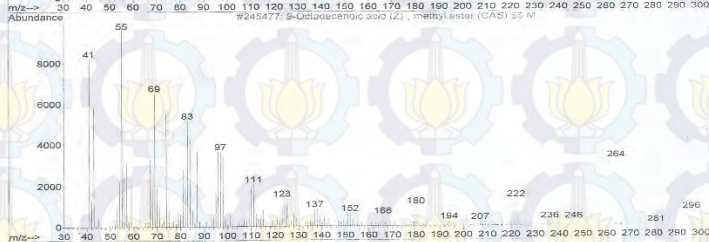
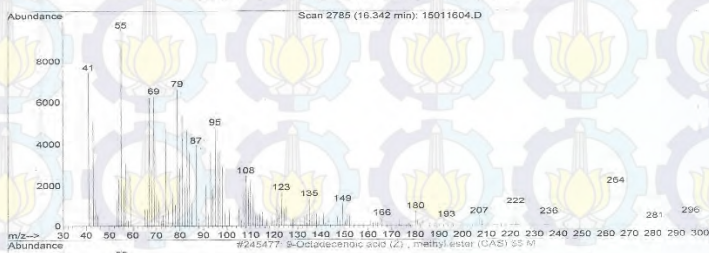




Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality  
ID

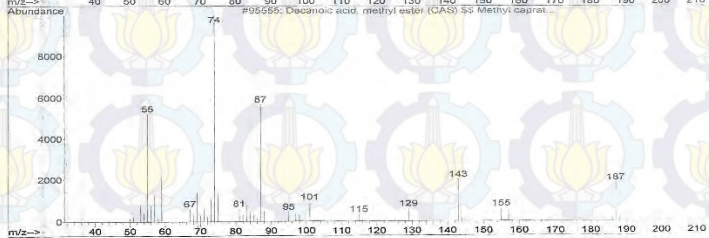
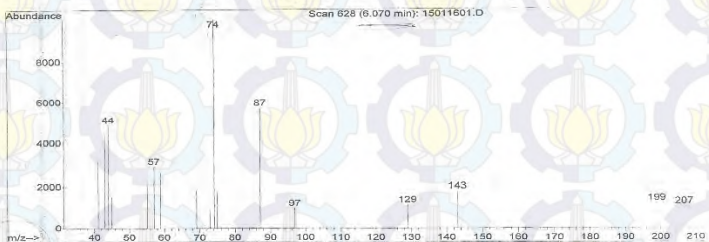
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) 55 Methyl  
oleate 55 Methyl cis-9-octadecenoate 55 Oleic acid methyl  
ester 55 Oleic acid, methyl ester 55 Emery oleic acid  
d ester 2301 55 OLEIC ACID-METHYL ESTER 55 (Z)-9-OCTADE  
CENOIC ACID, METHYL ESTER 55 (Z)-9-



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality  
ID

59  
Decanoic acid, methyl ester (CAS) 59 Methyl caprate 59  
Methyl decanoate 59 Capric acid methyl ester 59 Uniphat  
A30 59 Metholene 2095 59 Methyl caprinate 59 Methyl-n-  
caprate 59 Decanoic acid methyl ester 59 Methyl n-capri  
te 59 Methyl n-decanoate 59 n-Capri

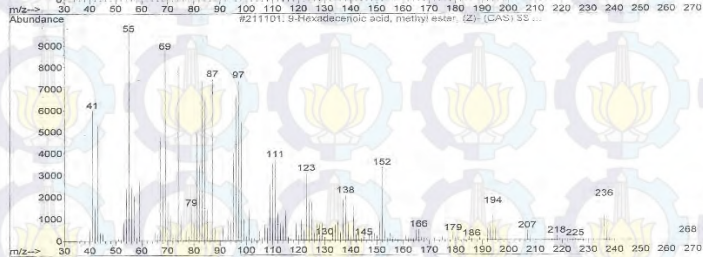
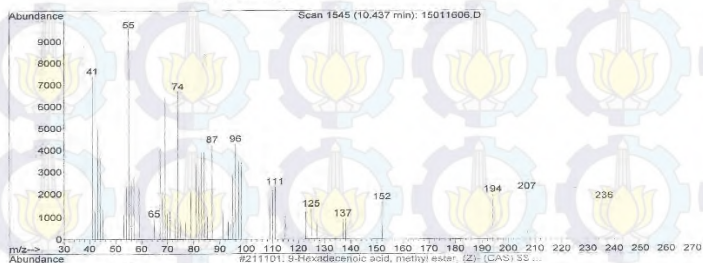




Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 87

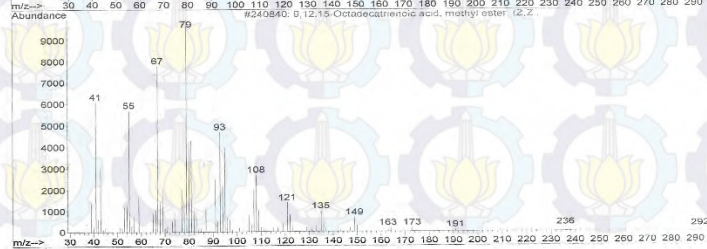
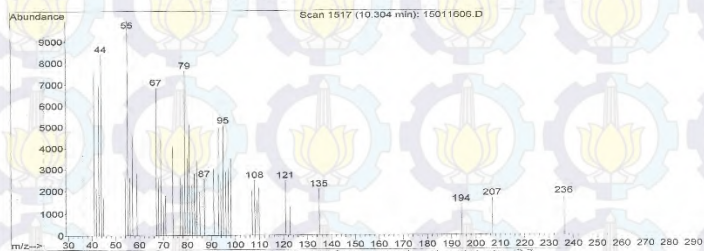
ID : 9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) \$S\$ Methyl  
 palmitoleate \$S\$ Methyl palmitoleate \$S\$ Palmitoleic  
 acid, methyl ester



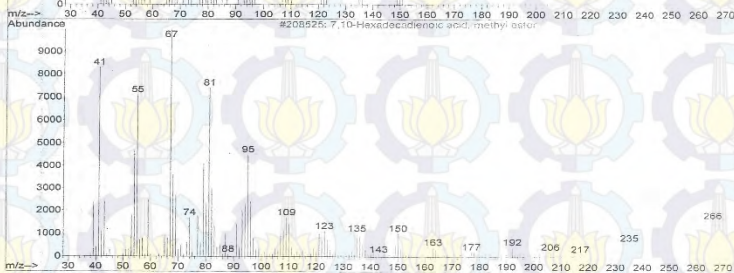
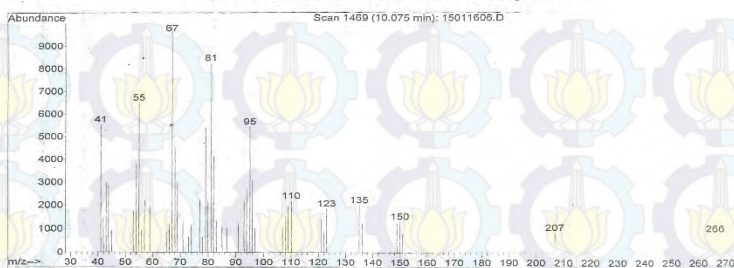
Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 35

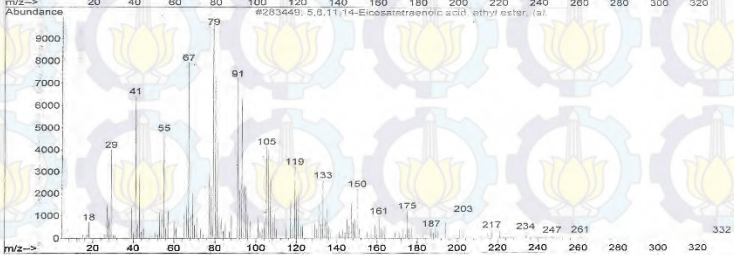
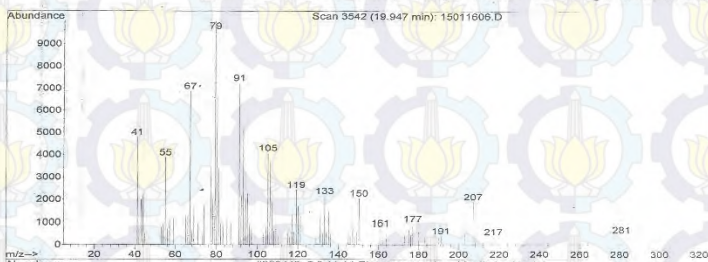
ID : 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- \$S\$  
 Linolenic acid, methyl ester \$S\$ Methyl all-cis-9,12,15-  
 octadecatrienoate \$S\$ Methyl linolenate



Library Searched : C:\Database\wiley7n.l  
Quality : 99  
ID : 7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester



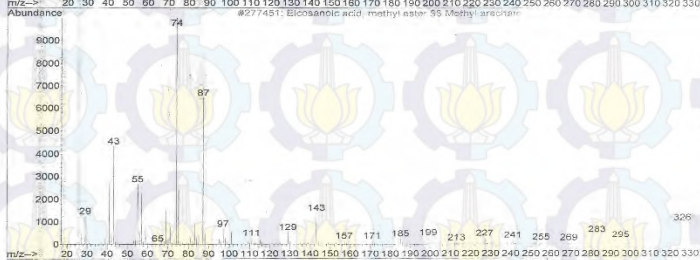
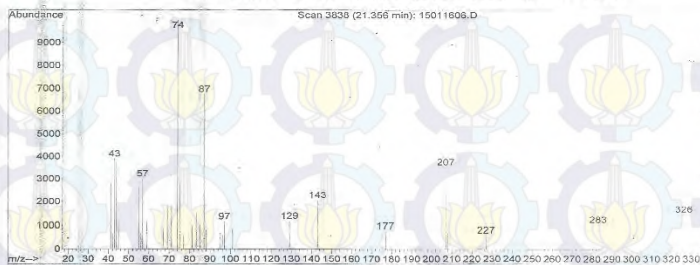
Library Searched : C:\Database\wiley7n.l  
Quality : 94  
ID : 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, ethyl ester, (all-2)-  
#2 Arachidonic acid, ethyl ester #3 Ethyl arachidonate



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 94

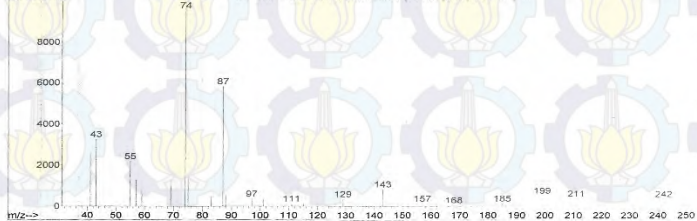
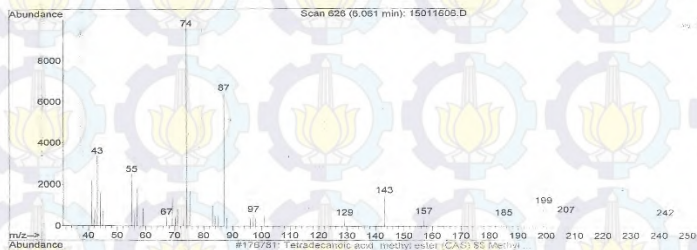
ID : Eicosanoic acid, methyl ester \$\$ Methyl arachate \$\$ Methyl eicosanoate \$\$ Arachidic acid methyl ester



Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 94

ID : Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl myristate \$\$ Methyl tetradecanoate \$\$ Myristic acid methyl ester \$\$ Uniphyl A50 \$\$ Methyl aneat 2495 \$\$ Myristic acid, methyl ester \$\$ Tetradecanoic acid methyl ester \$\$ MYRISTIC A



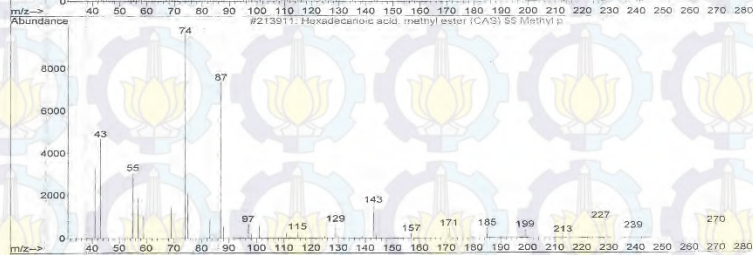
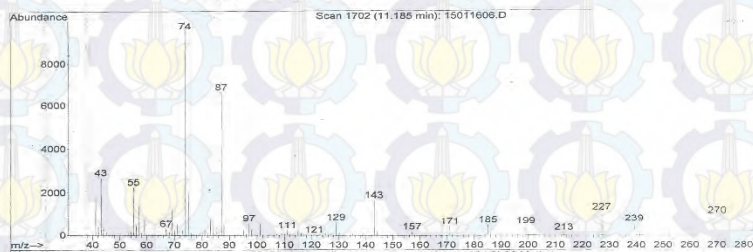


Library Searched : C:\Database\wiley7n.1

Quality : 98

ID :

Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) \$Methyl palmitate \$Methyl hexadecanoate \$Methyl n-hexadecanoate \$Uniphac A60 \$Metholene 2216 \$Palmitic acid methyl ester \$Palmitic acid, methyl ester \$n-Hexadecanoic acid methyl ester \$PALMITIC ACID-



## Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Sterilisasi Alat dan Media Kultur



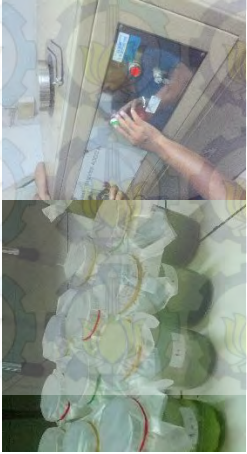
Kultur Mikroalga *Botryococcus* sp.



Kultur Starter



Pembuatan Kurva Pertumbuhan dan Penentuan Umur Starter



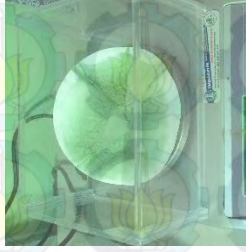
Iradiasi Mikroalga dengan  
Sinar Gamma  $^{60}\text{Co}$



Kultur Mikroalga Hasil  
Iradiasi Sinar Gamma



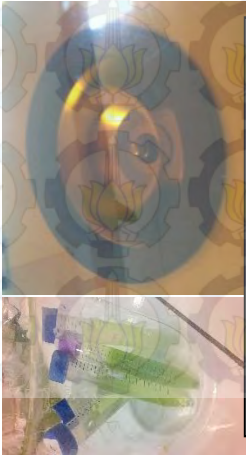
Pembuatan Kurva  
Pertumbuhan



Pemanenan Biomassa Mikroalga



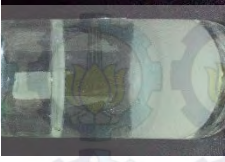




Ekstraksi lipid diawali dengan disentrifugasinya mikroalga



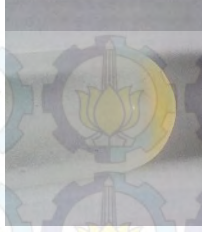
Sonikasi sel mikroalga



Campuran antara lipid mikroalga, metanol, kloroform dan aquades



Analisis dengan GC-MS



Lipid mikroalga

## BIODATA PENULIS



Penulis lahir di Banjarmasin, 2 Maret 1993. Penulis memulai pendidikannya di SDN Tlontoraja IV. Setelah lulus, ia melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 5 Probolinggo. Di jenjang pendidikan ini, penulis mulai tertarik pada bidang sains dengan mengikuti olimpiade Biologi. Penulis juga mengikuti perlombaan dibidang Karya Tulis Ilmiah. Lulus dari SMP, penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 2 Probolinggo. Penulis tetap aktif dalam mengikuti olimpiade

Biologi dan lomba karya tulis ilmiah. Penulis berhasil menjadi Juara 1 Lomba Karya Tulis Ilmiah Remaja tingkat Regional.

Setelah lulus SMA, penulis melanjutkan pendidikan di jurusan Biologi, FMIPA, ITS. Penulis tertarik dalam pengembangan bioteknologi untuk industri. Penulis aktif mengikuti organisasi yaitu HIMABITS (Himpunan Mahasiswa Biologi ITS) periode 2013-2014 sebagai staff Departemen Sains dan Teknologi dan pada periode yang sama juga menjadi staff Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) ITS. Selanjutnya pada periode 2014-2015 penulis menjadi Ketua Divisi Keilmiah Departemen *Reseach and Development* Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA ITS. Selain aktif berorganisasi, penulis juga mendapatkan pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa oleh Direktorat Pendidikan Tinggi (DIKTI) tahun 2014 kategori Karsa Cipta dan pada tahun 2015 kategori Penelitian. Penulis juga tertarik dalam bidang wirausaha hingga mendapat Juara 1 *Science in Action* Kategori *Entrepreneur* dan menjadi salah satu Semifinalis *International Bussines Plan Competition* ITS.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

